



SKRIPSI-SK141501

**AMOBILISASI ENZIM BROMELIN DARI BUAH
NANAS (*Ananas comosus* L.Merr.) MENGGUNAKAN
MATRIKS KITOSAN UNTUK PENGURANGAN
KANDUNGAN PROTEIN PADA AIR LIMBAH
PABRIK TAHU**

**MAWADDATUL WAROCHMAH
NRP. 1411100004**

**Dosen Pembimbing
Drs. Refdinal Nawfa, MS**

**KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2017**



SCRIPT-SK141501

**IMMOBILIZATION OF BROMELAIN FROM
PINEAPPLE (*Ananas comosus* L.Merr.) USING
MATRIX OF CHITOSAN FOR DECREASING
PROTEIN CONCENTRATION OF LIQUID WASTE
OF TAHU INDUSTRY**

**MAWADDATUL WAROCHMAH
NRP. 1411100004**

**Advisor Lecturer
Drs. Refdinal Nawfa, MS**

**CHEMISTRY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2017**

**AMOBILISASI ENZIM BROMELIN DARI BUAH
NANAS (*Ananas comosus* L.Merr.) MENGGUNAKAN
MATRIKS KITOSAN UNTUK PENGURANGAN
KANDUNGAN PROTEIN PADA AIR LIMBAH
PABRIK TAHU**

SKRIPSI

Disusun Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Program Studi S-1

Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

Disusun Oleh:

MAWADDATUL WAROCHMAH

NRP 1411100004

Dosen Pembimbing,

Drs. Refdinal Nawfa, MS

KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2017

LEMBAR PENGESAHAN

AMOBILISASI ENZIM BROMELIN DARI BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.Merr.) MENGGUNAKAN MATRIKS KITOSAN UNTUK PENGURANGAN KANDUNGAN PROTEIN PADA AIR LIMBAH PABRIK TAHU

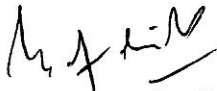
SKRIPSI

Disusun Oleh

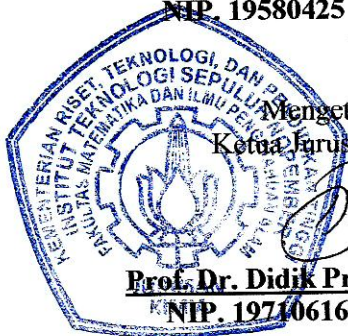
MAWADDATUL WAROCHMAH
NRP 1411100004

Surabaya, 03 Februari 2017

Menyetujui,
Dosen Pembimbing,



Drs. Refdinal Nawfa, MS
NIP. 19580425 198701 1 001



Mengetahui :
Ketua Jurusan Kimia,



Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M. Sc.
NIP. 19710616 199703 1 002

AMOBILISASI ENZIM BROMELIN DARI BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.Merr.) MENGGUNAKAN MATRIKS KITOSAN UNTUK PENGURANGAN KANDUNGAN PROTEIN PADA AIR LIMBAH PABRIK TAHU

Nama : Mawaddatul Warochmah
NRP : 1411100004
Pembimbing : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Abstrak

Air limbah pabrik tahu mengandung senyawa organik, yaitu protein, jika kandungan protein air limbah pabrik tahu yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan lingkungan air. Untuk mencegah terjadinya kerusakan dapat dilakukan dengan pengurangan kandungan protein air limbah pabrik tahu dengan memanfaatkan enzim bromelin amobil dengan matriks kitosan dari cangkang udang. Pada penelitian ini, enzim bromelin diisolasi dari buah nanas dengan pengendapan menggunakan larutan ammonium sulfat jenuh dan kasein sebagai substratnya. Pada uji aktivitas katalitik diperoleh fraksi enzim yang terbesar pada konsentrasi 30% ammonium sulfat jenuh. Penentuan kandungan protein menggunakan metode kolorimetri dengan reagen biuret pada λ_{maks} 520 nm, penelitian ini dilakukan dengan optimasi jumlah enzim bromelin amobil dan waktu inkubasi. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa enzim bromelin amobil dengan kitosan mampu mendegradasi protein dalam air limbah pabrik tahu optimum pada penggunaan 2 mg enzim bromelin amobil selama 10 jam inkubasi dapat mendegradasi protein 89,506% (7,91377 mg).

Kata kunci: air limbah pabrik tahu, enzim bromelin, kitosan

IMMOBILIZATION OF BROMELAIN FROM PINEAPPLE (*Ananas comosus* L.Merr.) USING MATRIX OF CHITOSAN FOR DECREASING PROTEIN CONCENTRATION OF LIQUID WASTE OF TAHU INDUSTRY

Name : Mawaddatul Warochmah
NRP : 1411100004
Advisor Lecture : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Abstract

Liquid waste of tahu industry contains organic compounds, that is protein, if protein level of liquid waste of tahu industry was so high, its can cause some trouble in environment of water. To prevent damage, its could be done with the reduction of protein to liquid waste of tahu industry by using immobilize of bromelain enzyme using matrix of chitosan from shrimp shells. In this research, bromelain enzyme was isolated from pineapple by precipitation of ammonium sulphate and casein as substrate. The test of catalytic activity was got the biggest enzyme fraction of 30% ammonium sulphate concentrate. Determination of organic compounds was used colorimety method by biuret at λ_{maks} 520 nm, in this research was conducted by optimization of the amount of immobilize bromelain enzyme and incubation time. The research showed that immobilize bromelain enzyme using matrix of chitosan can degrade the biggest protein compounds of liquid waste of tahu industry using 2 mg immobilize bromelain enzyme for 10 hours incubation, was 89.506% (7.91377 mg).

Key words: liquid waste of tahu industry, bromelain enzyme, chitosan

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin. Segala puji dihaturkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga naskah Skripsi yang berjudul “Perbandingan Aktivitas Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus* L.Merr.) menggunakan Matriks Alginat dan Alginat-Kitosan” dapat diselesaikan tepat waktu. Tulisan ini dapat diselesaikan atas bantuan dan dukungan dari semua pihak. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Drs. Refdinal Nawfa, MS selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah skripsi ini.
2. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M. Sc., selaku Ketua Jurusan Kimia atas fasilitas yang telah diberikan hingga naskah Skripsi ini dapat dierseslesaikan.
3. Dr. Djoko Hartanto, M.Si. selaku dosen wali atas pengarahannya dalam pengambilan mata kuliah dan memberikan wejangan-wejangan yang bermanfaat.
4. Bapak, Ibu, dan kakak beserta keluarga besar yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan doa.
5. Dosen dan teman-teman Chem1ITS yang membantu dan memberikan semangat dalam pengerjaan Skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah Rancangan Tugas Akhir ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun. Semoga Rancangan Tugas Akhir ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 03 Februari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> L.Merr.).....	7
2.1.1 Bagian-bagian Tanaman Nanas.....	8
2.1.2 Kandungan dan Manfaat Nanas	9
2.2 Tahu.....	12
2.2.1 Proses Pembuatan Tahu.....	13
2.2.2 Air Limbah Pabrik Tahu.....	16
2.3 Enzim.....	18
2.3.1 Isolasi Enzim dan Pemurnian Enzim.....	19
2.3.2 Cara Kerja Enzim	21
2.3.3 Faktor Aktivitas Enzim	23
2.3.3.1 Suhu.....	23
2.3.3.2 pH.....	24
2.3.3.3 Konsentrasi Enzim	25
2.3.3.4 Konsentrasi Substrat.....	26
2.3.3.5 Inhibitor	27
2.3.4 Aktivator Enzim	28
2.3.5 Klasifikasi Enzim	30
2.4 Enzim Bromelin pada Tanaman Nanas	31

2.4.1 Khasiat Enzim Bromelin dalam Tanaman Nanas	32
2.5 Amobilisasi Enzim	35
2.5.1 Teknik Amobilisasi Enzim.....	35
2.5.1.1 Carrier-binding	36
2.5.1.2 Pengikatan Silang (<i>Cross-linking</i>).....	37
2.5.1.3 Penjebakan Enzim (<i>Entrapping</i>)	38
2.5.2 Kelebihan Amobilisasi	38
2.6 Kitosan.....	39
2.7 Prinsip Kerja Alat Instrumen.....	41
2.7.1 Spektrofotometer UV-Vis	42
2.7.2 Sentrifugasi.....	43
2.7.3 Spektroskopi Inframerah (FTIR).....	43
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	45
3.1 Alat dan Bahan	45
3.1.1 Alat	45
3.1.2 Bahan.....	45
3.2 Prosedur Kerja.....	45
3.2.1 Isolasi Kitin menjadi Kitosan	45
3.2.1.1 Preparasi Cuplikan dari Kepala dan Kulit Udang.....	45
3.2.1.2 Tahap Deproteinasi Kitin	45
3.2.1.3 Tahap Demineralisasi Kitin.....	46
3.2.1.4 Tahap Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan.....	46
3.2.2 Pengambilan Sampel Air Limbah Pabrik Tahu.....	46
3.2.3 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu secara Kolorometri	46
3.2.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Standar Larutan Kasein.....	46
3.2.3.2 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu	47
3.2.4 Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas	47

3.2.5 Amobilisasi Enzim Bromelin dengan Matriks Kitosan	48
3.2.6 Pengurangan Kandungan Protein pada Air Limbah Pabrik Tahu dengan Enzim Bromelin Amobil.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	51
4.1 Isolasi Kitin	51
4.2 Deasetilasi Kitin	53
4.3 Pengambilan Sampel Air Limbah Pabrik Tahu	55
4.4 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu secara Kolorimetri	56
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Standar Larutan Kasein.....	56
4.4.2 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu.....	60
4.5 Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas.....	61
4.6 Amobilisasi Enzim Bromelin dengan Kitosan	64
4.7 Pengurangan Kandungan Protein pada Air Limbah Pabrik Tahu dengan Enzim Bromelin Amobil.....	66
BAB V KESIMPULAN	71
5.1 Kesimpulan.....	71
5.2 Saran	71
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman nanas (Sunarjono, 2008).....	8
Gambar 2.2 Diagram alir proses embuatan tahu (Muhajir, 2013)	16
Gambar 2.3 Aktivitas kofaktor terhadap enzim.....	20
Gambar 2.4 Sisi aktif enzim dan substrat.....	22
Gambar 2.5 Model lock and key enzim.....	22
Gambar 2.6 Model induced fit theory.....	23
Gambar 2.7 Pengaruh suhu dengan aktivitas enzim.....	24
Gambar 2.8 Pengaruh pH lingkungan pada aktivitas enzim.....	25
Gambar 2.9 Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim....	26
Gambar 2.10 Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi substrat	27
Gambar 2.11 Aktivitas inhibitor kompetitif.....	28
Gambar 2.12 Aktivitas inhibitor non-kompetitif.....	29
Gambar 2.13 Amobilisasi enzim dengan teknik <i>carrier-binding</i>	37
Gambar 2.14 Amobilisasi enzim dengan teknik <i>cross-linking</i> ...	38
Gambar 2.15 (a) penjebakan dalam matriks, dan (b) penjebakan dalam kapsul berukuran mikro (semipermeable)...	39
Gambar 2.16 Struktur senyawa kitin.....	41
Gambar 2.17 Struktur senyawa kitosan [C ₆ H ₁₁ NO ₄].....	41
Gambar 2.18 Instrumen spektrofotometer UV-Vis.....	44
Gambar 2.19 Skema kerja alat FTIR.....	45
Gambar 4.1 Spektra FTIR senyawa kitin.....	55
Gambar 4.2 Spektra FTIR senyawa kitosan.....	57
Gambar 4.3 Penampang larutan kasein 5000 ppm dan blanko...	59
Gambar 4.4 Kurva Absorbansi terhadap Panjang Gelombang...	60
Gambar 4.5 Kurva standar protein kasein.....	61
Gambar 4.6 Supernatan air limbah tahu.....	62
Gambar 4.7 Enzim bromelin: a) enzim bromelin kasar; b)enzim bromelin kering.....	65
Gambar 4.8 Amobilisasi enzim dengan metode penjebakan.....	67
Gambar 4.9 Amobilisasi enzim dengan Metode <i>cross-linking</i> ...	68

Gambar 4.10 Kurva protein terdegradasi pada pengurangan kandungan protein air limbah tahu.....70

Gambar 4.11 Kurva aktivitas enzim bromelin pada pengurangan air limbah tahu.....71

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Buah Nanas Segar per 100 gram.....	10
Tabel 2.2 Kandungan nilai gizi tahu segar per 100 gram.....	13
Tabel 2.3 Contoh enzim yang mempunyai kofaktor.....	30
Tabel 2.4 Contoh enzim yang mengandung koenzim.....	30
Tabel 2.5 Klasifikasi enzim berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis.....	31
Tabel 4.1 Aktivitas protein (kasein) yang terdegradasi oleh enzim bromelin kasar.....	65
Tabel 4.2 Jumlah berat protein yang terdegradasi pada pengurangan kandungan protein air limbah.....	69
Tabel 4.3 Aktivitas enzim bromelin amobil pada pengurangan air limbah tahu.....	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Metodologi.....	77
Lampiran 2 Perhitungan.....	78
Lampiran 3 Data Panjang Gelombang Maksimum.....	81
Lampiran 4 Data Absorbansi Kurva Standar Kasein.....	82
Lampiran 5 Uji Aktivitas Enzim Bromelin.....	84
Lampiran 6 Pengurangan Kandungan Protein Air Limbah Tahu dengan Variasi Massa Enzim Bromelin Amobil dan Waktu Inkubasi.....	87

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring berkembangnya jaman, dunia semakin berkembang pesat khususnya pada perkembangan sektor industri, hal tersebut mendorong adanya inovasi baru yang memberikan kontribusi untuk menciptakan lapangan kerja dan terciptanya teknologi canggih untuk kehidupan manusia. Adanya perkembangan sektor industri yang pesat selalu ada konsekuensinya, yaitu berdampak pada lingkungan yang tercemari oleh limbah industri baik limbah cair, padat, maupun gas. Pada kenyataannya yang memberikan kontribusi cemaran limbah yang paling besar adalah limbah industri kecil dan limbah rumah tangga. Hal tersebut disebabkan beberapa faktor, yaitu kurangnya pengetahuan tentang dampak pencemaran lingkungan dan tidak adanya sarana untuk pengolahan limbah. Salah satu industri kecil yang memberikan kontribusi pencemaran adalah industri tahu dimana limbah cairnya mencemari lingkungan perairan dan berbau tak sedap.

Tahu merupakan salah satu makanan tradisional yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai lauk pauk yang mengandung protein dengan berbahan dasar kacang kedelai yang telah diproses. Tahu diproduksi di beberapa industri kecil yang sebagian besar terdapat di Pulau Jawa. Semakin banyak konsumen tahu di Indonesia, maka semakin pesat produksi tahu pada industri tahu, dengan demikian kontribusi limbah tahu semakin melimpah. Pada proses produksi tahu membutuhkan air untuk proses sortasi, perendaman, pengupasan kulit kedelai, pencucian, penggilingan, perebusan, dan penyaringan tahu dimana pada proses tersebut menghasilkan limbah padat dan limbah cair. Limbah padat yang berupa kulit kedelai dan selaput lendir yang selalu dimanfaatkan untuk pakan ternak, sedangkan

limbah cair dibuang begitu saja di lingkungan sehingga mencemarinya.

Limbah cair industri tahu memiliki kandungan senyawa organik yang sangat tinggi, tanpa adanya proses penanganan limbah cair tahu dapat menyebabkan bau tak sedap, sarang nyamuk, polusi air, sumber penyakit, dan menyebabkan kematian pada makhluk hidup tanpa terkecuali mikroorganisme dalam air yang berperan penting dalam mengatur keseimbangan biota air. Bau tak sedap ditimbulkan karena adanya proses anaerob limbah cair tahu dari perombakan protein, lemak, dan karbohidrat oleh mikroorganisme.

Limbah cair mengandung padatan tersuspensi dan terlarut yang dapat mengalami perubahan hayati, fisik, dan kimia yang menghasilkan zat beracun dan tumbuhnya kuman. Beban pencemaran limbah cair dapat dilihat dari kadar BOD (*Biological Oxygen Demand*) dan COD (*Chemical Oxygen Demand*) yang terkandung dalam air limbah tersebut. Dimana menurut (Romli, 2009) sumber limbah cair tahu di Semarang menghasilkan nilai rata-rata BOD 3500 mg/L dan COD 7300 mg/L yang jauh dari nilai baku mutu air limbah industri tahu yang telah ditetapkan oleh Pemerintah menurut Perda Provinsi Jawa Tengah No. 10 Tahun 2004, yaitu kadar BOD 150 mg/L, COD 275 mg/L, TSS 100 mg/L, dan pH 6,0-9,0. Nilai baku mutu air limbah industri tahu di Jawa Timur yang telah ditetapkan pada Peraturan Gubernur Jawa Timur No. 72 Tahun 2013, yaitu kadar BOD 150 mg/L, COD 300 mg/L, TSS 100 mg/L, dan pH 6,0-9,0. Komposisi terbesar dalam limbah cair tahu mengandung bahan-bahan organik, seperti karbohidrat 8,5-12 mg/L, gula reduksi 5-10 mg/L, protein 130-450 mg/L, Fe 5 mg/L, Zn 3 mg/L, Ca 38 mg/L, dan K 256 mg/L, dimana limbah cair tahu termasuk dalam limbah *biodegradable* (limbah yang dapat diuraikan oleh mikroorganisme), untuk dapat menguraikan bahan-bahan organik mikroorganisme membutuhkan oksigen dalam jumlah tertentu, kebutuhan oksigen tersebut disebut BOD dan COD. Semakin meningkatnya kadar BOD dan COD, maka kebutuhan akan

oksigen tersebut juga semakin meningkat untuk menguraikan bahan-bahan organik. Ketika oksigen yang dibutuhkan untuk penguraian bahan organik tidak mencukupi dan limbah cair industri tahu terus menerus dibuang ke lingkungan tanpa pengolahan dapat menyebabkan pencemaran (Hudha, Jimmy, & Muyassaroh, 2014).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan tentang penurunan pencemaran pada air limbah industri tahu, diantaranya menurut Muhajir (2013), melakukan penelitian untuk menurunkan kadar BOD dan COD limbah cair industri tahu dengan memanfaatkan Tanaman *Cattail* (*Typha angustifolia*) dengan sistem *Constructed Wetland* yang dapat menurunkan kadar BOD sebesar 78% (177 mg/L), kadar COD 77% (277 mg/L), dan TSS 78% (146 mg/L) selama 20hari. Ketika berat Tanaman *Cattail* ditambahkan sampai sebanyak 4kg mampu menurunkan kadar BOD 87,6% (80 mg/L), COD 86,7% (165 mg/L), dan TSS 90,2% (63 mg/L). Penelitian yang telah dilakukan oleh Wahistina, Ellyke, dan Pujiati (2013), memanfaatkan zeolit sebagai *ion exchanger*, *molecular sieve*, katalis, dan adsorben untuk menurunkan pencemaran air limbah industri tahu. Zeolit digunakan untuk menurunkan kadar BOD dan COD menggunakan metode *true experimental design* dengan *Posttest Only Control Group Design* dan RAK mampu menurunkan kadar BOD sampai 60,1% dan kadar COD sampai 56,9%. Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Hudha, Jimmy, dan Muyassaroh (2014), menggunakan proses elektrolisis dengan elektroda besi mampu menurunkan kadar COD dan TSS pada limbah cair industri tahu, dimana mampu menurunkan kadar COD sampai 42,11% pada tegangan 6 volt selama 90 menit dan TSS sampai 77,27% pada tegangan 6 volt selama 60 menit waktu elektrolisis.

Hasil penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Prawesti, Y.D.H (2009), yaitu pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu dengan menggunakan enzim bromelin amobil dari buah nanas dengan alginat sebagai bahan pengamobil.

Enzim bromelin amobil optimum pada konsentrasi alginat sebesar 2%, konsentrasi substrat 80% pada pH 6,5 selama 9 jam mampu mendegradasi protein air limbah pabrik tahu sebesar 59,641%. Pada penelitian ini untuk amobilisasi enzim bromelin dari buah nanas dengan menggunakan matriks pendukung kitosan untuk pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu. Uji aktivitas enzim dilakukan dengan optimasi jumlah enzim amobil dan waktu inkubasi. Diharapkan enzim bromelin amobil dengan kitosan sebagai pengamobil dapat mendegradasi kandungan protein pada air limbah pabrik tahu lebih banyak dan lebih sempurna dari penelitian sebelumnya.

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah yang dikaji dalam penelitian ini berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu mengganti amobilisasi enzim bromelin dari buah nanas dengan menggunakan matriks kitosan yang diaplikasikan untuk pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu. Matriks pendukung kitosan yang digunakan, diperoleh dari proses deasetilasi senyawa kitin dari ekstrak cangkang udang. Pada penelitian ini ditentukan apakah enzim bromelin yang teramobil dengan matriks kitosan juga dapat berperan baik dalam pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Enzim bromelin diisolasi dari ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*), buah nanas yang diperoleh dari daerah Jawa Timur.
2. Matriks kitosan diperoleh dari beberapa tahap yang memanfaatkan bagian kepala dan kulit udang sebagai bahan pembuatan kitin menjadi kitosan.

3. Variabel yang dianalisis, yaitu pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu dilakukan dengan optimasi massa enzim amobil dengan waktu inkubasi, serta penentuan kandungan protein dilakukan dengan uji Kolorimetri.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui seberapa besar kemampuan enzim bromelin amobil dengan matriks kitosan (sebagai zat pengamobil) dalam pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu dengan adanya pengaruh jumlah enzim bromelin amobil dan waktu inkubasi.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang enzim bromelin amobil dengan matriks kitosan dapat berperan penting untuk pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu, sehingga dapat mengurangi pencemaran lingkungan dari air limbah pabrik tahu.
2. Memberikan data ilmiah tentang pengaruh penambahan jumlah enzim bromelin amobil dengan waktu inkubasi pada pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu.
3. Memberikan data ilmiah bahwa kepala dan kulit udang dapat digunakan sebagai bahan utama pembentukan kitin menjadi kitosan (sebagai zat pengamobil).
4. Memberikan cara alternatif produksi enzim bromelin dari buah nanas dengan matriks kitosan, agar dapat digunakan secara berulang kali untuk proses pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L.Merr.)

Tanaman nanas dengan nama Latin *Ananas comosus* L.Merr. merupakan tanaman yang berasal dari Benua Amerika, tanaman tersebut menyebar ke segala penjuru dunia yang beriklim tropis. Pada abad ke-15 tanaman nanas masuk ke Negara Indonesia yang sampai memenuhi lahan pekarangan masyarakat. Di Indonesia tanaman nanas menyebar ke 5 daerah provinsi, yaitu:

- a. Sumatra Utara: Asahan, Tapanuli Selatan, dan Simalungun.
- b. Sumatra Selatan: Lematang Ilir, Musi Rawas, Ogan Komering Ulu, dan Palembang.
- c. Riau: Bangkinang, Bengkalis, Kepulauan Riau, dan Kampar.
- d. Jawa Barat: Bogor, Pandeglang, Subang, Sukabumi, dan Tasikmalaya.
- e. Jawa Timur: Banyuwangi, Pasuruan, Blitar, Kediri, Tulungagung, dan Jember (Santoso, 1998).

Pada saat ini tanaman nanas telah tersebar diseluruh dunia, khususnya di negara-negara sekitar garis khatulistiwa antara 30⁰LU dan 30⁰LS. Di Indonesia, tanaman nanas sangat di gandrungi dan banyak ditanam mulai di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi (Sunarjono, 2008).

Klasifikasi tanaman nanas sebagai berikut:

Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberidae
Familia	: Bromeliales
Genus	: <i>Ananas</i>
Spesies	: <i>Ananas comosus</i>

(Masri, 2014)

Berikut adalah salah satu contoh bagian dari tanaman nanas yang ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman nanas (Sunarjono, 2008).

2.1.1 Bagian-bagian Tanaman Nanas

Tanaman nanas merupakan tanaman rumput yang mempunyai batang sangat pendek, tanaman monokotil, dan sifatnya merumpun atau bertunas anakan (Sunarjono, 2008).

a. Daun dan Cabang

Tanaman nanas memiliki daun yang sangat panjang, berurat sejajar, dan dibagian tepi daunnya tumbuh duri. Daunnya terdapat dibagian pangkal batang, sedangkan pada batangnya tumbuh tangkai bunga dan juga tumbuh tunas. Tunas tanaman nanas terdapat di batangnya yang disebut *sucker* dan juga terdapat tunas dibagian tangkai buah yang disebut *slips* (Sunarjono, 2008).

b. Bunga

Bunga tanaman nanas ini merupakan golongan bunga sempurna yang mempunyai tiga kelopak (sepalum), tiga mahkota

(petalum), enam benangsari, dan satu serbuk putik dengan stigma bercabang tiga. Bunga pada tanaman nanas terdapat di bagian ujung batang dan hanya sekali berbunga, serta bunganya tegak ke atas. Sebenarnya bunga tanaman nanas sifatnya majemuk, terdiri lebih dari 200 kuntum bunga yang tidak bertangkai, bunga duduk tegak lurus pada tangkai buah utamanya, kemudian berkembang menjadi buah majemuk yang lezat dimakan. Daun kelopak pada setiap kuntum bunganya disebut mata yang jelas meninggalkan bekas pada buahnya. Tanaman nanas menyerbuk silang dengan perantara burung kicau dan lebah (Sunarjono, 2008).

c. Buah

Buah pada tanaman nanas merupakan buah majemuk yang disebut sinkarpik atau *coenocarpium*, pada bagian atas buah tumbuh daun-daun pendek yang tersusun seperti pilin yang disebut mahkota (crown) (Sunarjono, 2008).

d. Akar

Tanaman nanas ini mempunyai akar serabut dan mengandung cukup banyak air. Akar tanaman nanas ini letaknya dangkal dari permukaan tanah dan tersebar luas di lapisan tanah (Sunarjono, 2008).

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Nanas

Tanaman nanas buahnya mempunyai kulit yang keras berlapis lilin berwarna hijau dan berwarna kuning jika sudah masak, buahnya berbentuk silinder berdiameter 15-20 cm, berupa buni majemuk, beratnya 1,5-5 kg, daging buah berwarna kuning muda, berair, rasanya asam sampai manis, dan baunya harum. Buah nanas segar merupakan sumber vitamin (A, B₁, B₂, dan C), mineral (kalium, tembaga, kalsium, fosfor, magnesium, natrium, besi, dan mangan dengan substansi kandungan gula 10%, setengahnya berupa sukrosa sisanya glukosa dan fruktosa), sukrosa (gula tebu), enzim bromelin (golongan sulfur yang mengandung enzim proteolitik), asam nikotik, asam organik, karoten, dan serat (Dalimartha & Adrian, 2011). Tanaman nanas

memiliki nilai ekonomi pada buahnya yang tidak hanya dikonsumsi sebagai buah segar, tetapi dapat diolah menjadi makanan dan minuman. Buah nanas memiliki nilai gizi yang cukup tinggi seperti pada tabel 2.1 (Santoso, 1998).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Buah Nanas Segar per 100 gram.

No.	Kandungan Gizi	Jumlah
1.	Kalori	52,00 kal
2.	Protein	0,40 g
3.	Lemak	0,20 g
4.	Karbohidrat	16,00 g
5.	Fosfor	11,00 mg
6.	Zat Besi	0,30 mg
7.	Vitamin A	130,00 mg
8.	Vitamin B1	0,08 mg
9.	Vitamin C	24,00 mg
10.	Air	85,30 g
11.	Bagian dapat dimakan (Bdd)	53,00 %

Sumber: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1981 (Santoso, 1998).

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan sari buah nanas terhadap mutu susu sapi, diketahui bahwa penambahan 3,4 mL sari buah nanas dapat diperoleh populasi bakteri terendah, yaitu sebesar $37,60 \times 10^4$ sel/mL dan kadar lemak tertinggi 7,594%. Sedangkan pada penambahan 3,2 mL sari buah nanas diperoleh kadar protein tertinggi, yaitu sebesar 19,138% (M. Nuh Nasution, Jurusan Biologi FMIPA Unand, 1993) (Dalimartha & Adrian, 2011).

Buah nanas yang sudah matang sifatnya dingin, sehingga mempunyai beberapa khasiat bagi kesehatan tubuh manusia, antara lain:

1. Menghilangkan rasa haus
2. Mencerna daging (protein) di lambung
3. Menyehatkan limpa
4. Mengurangi produksi asam lambung berlebih

5. Diuretik (peluruh air seni)
6. Anti-inflamasi
7. Mengatasi beri-beri
8. Menurunkan demam
9. Mengobati sesak napas
10. Mengobati memar
11. Meningkatkan penyerapan antibiotik
12. Membersihkan jaringan kulit mati (*skin debriment*)
13. Menurunkan berat badan
14. Meringankan nyeri (rheumatoid, bursitis, tendinitis, arthritis)
15. Mengobati tekanan darah rendah
16. Menghambat sel kanker (Dalimartha & Adrian, 2011)

Ada beberapa jenis penyakit yang harus menghindari konsumsi buah nanas yang berlebihan, yaitu penderita kencing manis (diabetes) dan asam urat tinggi. Pada penderita diabetes atau kencing manis tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas yang sudah matang berlebih, karena buah nanas yang sudah matang mengandung kadar gula yang cukup tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa darah. Sedangkan penderita asam urat tinggi tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas yang terlalu matang, karena buah nanas yang terlalu matang mengandung kadar alkohol yang cukup tinggi, sehingga dapat menghambat keluarnya asam urat melalui urin. Ketika adanya hambatan keluarnya asam urat melalui urin dapat menimbulkan kekambuhan reumatik gout dan meningkatkan kadar asam urat dalam darah (Dalimartha & Adrian, 2011).

Buah nanas yang masih muda rasanya asam mempunyai beberapa manfaat, yaitu:

1. Antelmintik (peluruh cacing usus)
2. Memacu enzim pencernaan
3. Peluruh haid (emenagog)
4. Pencahar
5. Abotivum (menghentikan kehamilan)

6. Diuretik
7. Peluruh dahak (mukolitik) (Dalimartha & Adrian, 2011)

Tidak semua orang bisa mengonsumsi buah nanas, karena pada sebagian orang dapat timbul alergi setelah mengonsumsi buah nanas. Ada yang merasakan keluhan di bagian lambung (mual dan muntah), diare, sesak napas, dan tenggorokan bengkak, sehingga sulit bernapas, denyut jantung cepat, kulit menjadi kemerahan, gangguan haid, kontraksi rahim, dan iritasi pada selaput lender (Dalimartha & Adrian, 2011).

2.2 Tahu

Tahu merupakan salah satu makanan tradisional yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai lauk pauk yang mengandung protein dengan bahan dasar kacang kedelai yang telah diproses. Tahu diproduksi di beberapa industri kecil yang sebagian besar terdapat di Pulau Jawa. Tahu menjadi makanan kegemaran masyarakat Indonesia dimana harganya yang sangat terjangkau dari kalangan menengah ke bawah sampai menengah ke atas, selain itu tahu makanan yang bergizi. Protein dalam tahu diekstrak dari protein kedelai menggunakan metode koagulasi dengan bahan penggumpal protein berupa asam atau garam kalsium atau dapat menggunakan bahan penggumpal lainnya yang khusus digunakan untuk makanan.

Kandungan protein produk olahan kedelai non-fermentasi ini tidak terlalu tinggi sekitar 8-12%, karena kandungan protein dalam kedelai larut dalam air pada saat proses pengolahan tahu. Begitu juga dengan kandungan karbohidrat dan serat dalam kedelai yang larut dalam air, sehingga tahu mudah dicerna dalam pencernaan. Kandungan kadar air yang tinggi sekitar 86%, protein 8-12%, karbohidrat 1,6%, dan lemak 4,8% merupakan media yang baik untuk berkembangbiakan mikroorganisme pembusuk, terutama bakteri. Dalam 1-2 hari tahu mengalami perubahan warna, bau, dan tekstur, sehingga tak layak dikonsumsi lagi.

Semakin banyak konsumen tahu di Indonesia, maka semakin pesat produksi tahu di industri tahu, dengan demikian kontribusi limbah tahu juga semakin melimpah. Pada proses produksi tahu membutuhkan air untuk proses sortasi, perendaman, pengupasan kulit kedelai, pencucian, penggilingan, perebusan, dan penyaringan tahu dimana pada proses tersebut menghasilkan limbah padat dan limbah cair. Limbah padat yang berupa kulit kedelai dan selaput lendir yang selalu dimanfaatkan untuk pakan ternak, sedangkan limbah cair dibuang begitu saja, sehingga mencemari lingkungan.

Tabel 2.2 Kandungan nilai gizi tahu segar per 100 gram.

Kandungan Nilai Gizi	Total
Energi (kal)	6
Air (g)	86,70
Protein (g)	7,90
Lemak (g)	4,10
Abu (g)	0,90
Karbohidrat (g)	0,40
Serat (g)	0,10
Kalsium (mg)	150
Niacin (mg)	0,40
Besi (mg)	0,20
Vitamin B ₁ (mg)	0,04
Vitamin B ₂ (mg)	0,02

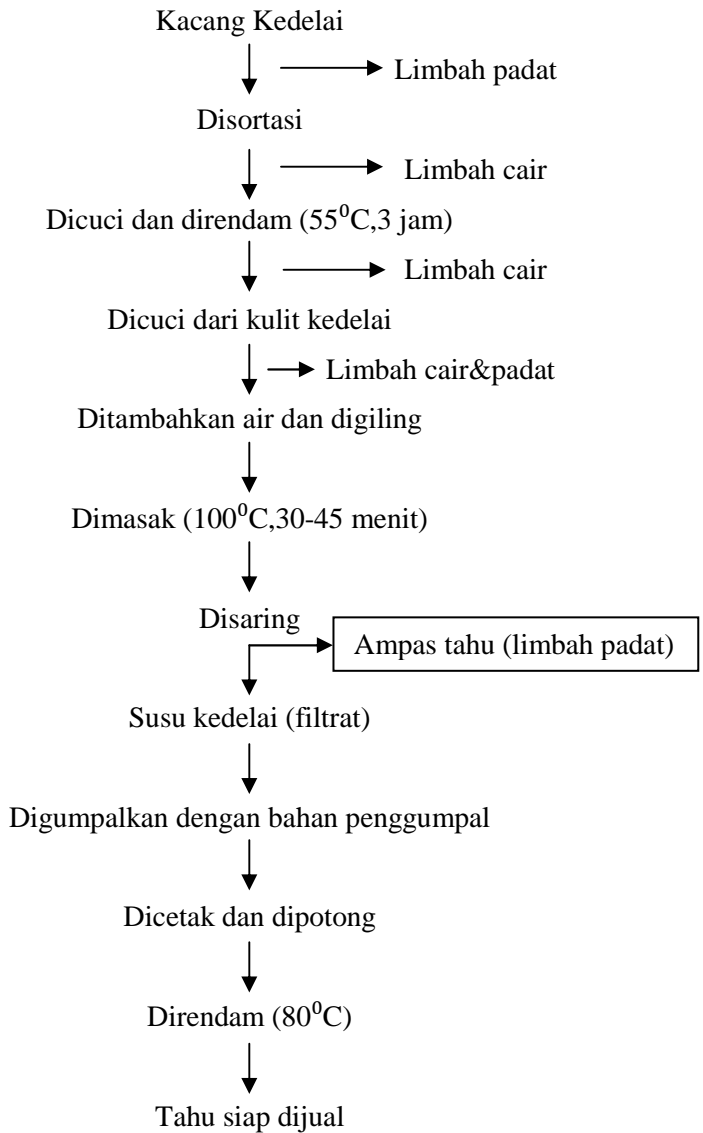
(Sumber : Depkes, 1996)

2.2.1 Proses Pembuatan Tahu

Proses pembuatan tahu menggunakan metode koagulasi atau penggumpalan pada protein susu kedelai dengan menggunakan bahan batu tahu (CaSO_4), asam cuka (CH_3COOH), dan MgSO_4 . Asam cuka (CH_3COOH) digunakan untuk mengembangkan pati susu kedelai, sehingga dapat terjadi ikatan pati susu kedelai dan tekstur tahu menjadi lebih padat. Adapun proses pembuatan tahu antara lain:

1. Dipilih kacang kedelai yang utuh, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan semua pengotor hilang.
2. Direndam dalam air hangat pada suhu 55°C selama ± 3 jam untuk mempermudah pengupasan kulit kacang kedelai dan melunakkan tekstur kacang kedelai, sehingga mempermudah penggilingan. Perendaman dengan air hangat untuk mempercepat waktu perendaman dan perendaman yang terlalu lama dapat mengurangi total padatan.
3. Dibersihkan dari kulit kacang kedelai yang mengelupas dengan air mengalir dan bersih, kemudian dilakukan proses penggilingan dengan ditambahkan air panas (80°C - 100°C) untuk menginaktifkan enzim lipoksigenase penyebab bau langu pada ekstrak kedelai.
4. Dimasak pada suhu 100°C selama 30-45 menit untuk menginaktifkan anti-trypsin, mengurangi bau langu, mempermudah proses ekstraksi, mempercepat proses penggumpalan protein, mengawetkan, dan meningkatkan tekstur.
5. Disaring dan filtratnya ditambahkan bahan penggumpal berupa batu tahu (CaSO_4) atau asam cuka (CH_3COOH) atau MgSO_4 .
6. Dicitak pres dan dilakukan pemotongan tahu sesuai dengan kebutuhan.
7. Setelah dipotong, direbus kembali atau dapat dengan hanya direndam dengan air hangat pada suhu 80°C sebelum dipasarkan (Muhajir, 2013).

Dari penjelasan proses pembuatan tahu diatas dapat dibuatkan diagram alir proses pembuatan tahu pada Gambar 2.2 berikut:



Gambar 2.2 Diagram alir proses pembuatan tahu (Muhajir, 2013).

2.2.2 Air Limbah Pabrik Tahu

Pada proses pembuatan tahu selain menghasilkan tahu juga menghasilkan limbah baik limbah padat maupun limbah cair, dimana limbah padat dihasilkan dari proses sortasi, pengupasan kulit kacang kedelai, dan penyaringan (ampas tahu). Pada limbah cair diperoleh dari proses pencucian, perebusan, pengepresan, dan pencetakan tahu, oleh karena itu limbah cair yang dihasilkan sangat melimpah. Limbah padat yang dihasilkan selalu dimanfaatkan untuk pakan ternak atau ampas tahu biasanya digunakan sebagai makanan baru, yaitu tempe menjos yang diolah dengan cara fermentasi. Pada limbah cair pabrik tahu yang langsung dibuang ke perairan sungai tanpa pengolahan limbah, sehingga dapat menyebabkan pencemaran air sungai.

Limbah cair industri tahu yang memiliki kandungan senyawa organik, seperti 40-60% protein, 25-50% karbohidrat, 10% lemak, dan padatan tersuspensi lainnya di alam yang dapat mengalami perubahan kimia, fisika, maupun hayati yang akan menghasilkan senyawa toksik atau sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Jika tanpa adanya proses penanganan limbah cair industri tahu tersebut dapat menyebabkan bau tak sedap, sarang nyamuk, polusi air, sumber penyakit, dan menyebabkan kematian pada makhluk hidup tanpa terkecuali mikroorganisme dalam air yang berperan penting dalam mengatur keseimbangan biota air. Bau tak sedap ditimbulkan, karena adanya proses anaerob limbah cair industri tahu dari perombakan protein, lemak, dan karbohidrat oleh mikroorganisme. Sumber penyakit yang dapat ditimbulkan dari pencemaran air sungai diantaranya penyakit diare, gatal-gatal, radang usus, kolera, dan penyakit lainnya. Selain itu, pencemaran air sungai dapat mengurangi kualitas air sungai, diantaranya:

1. Kehidupan biotik terganggu

Ketika bahan organik dalam air sedikit, maka untuk proses metabolisme makhluk air membutuhkan oksigen dan

oksigen dalam air akan segera diganti dengan oksigen hasil fotosintesis atau hasil proses reaerasi melalui udara. Apabila kadar bahan organik dalam air sangat tinggi dapat terjadi proses anaerobik, dimana proses tersebut dapat menghasilkan produk dekomposisi berupa gas-gas, seperti gas karbondioksida (CO_2), amoniak (NH_3), hidrogen sulfida (H_2S), asam asetat, dan metana (CH_4). Dimana gas tersebut sangat beracun pada sebagian besar makhluk air dan dapat menimbulkan bau tak sedap.

2. Kelarutan oksigen dalam air turun

Pada proses perebusan kacang kedelai suhunya mencapai 75°C - 100°C , kalau air rebusan tersebut langsung dibuang ke badan sungai, maka dapat mempengaruhi kelarutan oksigen dalam air sungai. Karena kelarutan dalam oksigen dipengaruhi oleh temperature dan kelarutan oksigen yang kecil dapat mengganggu kehidupan biotik air. Semakin tinggi temperatur, maka semakin turun kelarutan oksigen, pada suhu 20°C , 1 atm konsentrasi oksigen terlarut 9,2 ppm (jenuh) dan suhu 50°C konsentrasinya turun menjadi 5,6 ppm.

3. Kadar BOD dan COD meningkat

Limbah cair industri tahu merupakan bagian dari limbah *biodegradable* dimana limbah yang dapat diuraikan oleh mikroorganisme. Sedangkan mikroorganisme membutuhkan oksigen untuk dapat menguraikan bahan organik (BOD = *Biological Oxygen Demand*), ketika kadar BOD meningkat maka oksigen yang dibutuhkan mikroorganisme untuk menguraikan bahan-bahan organik tersebut juga meningkat. Penguraian atau pengoksidasi bahan organik juga dapat dilakukan oleh senyawa kimia berupa kalium bikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) atau KMnO_4 dan kondisi itu disebut COD (*Chemical Oxygen Demand*), semakin meningkatnya kadar COD maka semakin meningkat pula oksigen yang dibutuhkan senyawa kimia tersebut untuk menguraikan bahan-bahan organik dalam air. Ketika kebutuhan akan oksigen dalam air untuk penguraian bahan-bahan organik tidak

mencukupi, sedangkan limbah cair terus meningkat, maka dapat menyebabkan pencemaran lingkungan air sungai (Hudha, Jimmy, & Muyassaroh, 2014).

4. Kadar TSS yang meningkat

Kekeruhan dalam air dapat membatasi penetrasi cahaya untuk proses fotosintesis dan visibilitas perairan, dimana kekeruhan tersebut dapat dinyatakan sebagai TSS (*Total Suspended Solid*). TSS merupakan residu dari padatan total yang tertahan dengan ukuran yang lebih besar dari ukuran partikel koloid, residu padatan tersebut berupa lumpur, ganggang, jamur, bakteri, logam oksida, dan sulfida (Muhajir, 2013).

Kandungan protein pada limbah cair industri tahu dapat mengalami degradasi menjadi senyawa anorganik baik melalui proses aerob maupun proses anaerob yang dapat menghasilkan senyawa-senyawa yang lebih stabil. Untuk senyawa anorganik yang tidak stabil akan mengalami oksidasi menjadi senyawa anorganik yang lebih stabil, seperti senyawa ammonia yang teroksidasi menjadi senyawa nitrit dan nitrat.

2.3 Enzim

Enzim merupakan salah satu golongan protein yang banyak terdapat dalam sel makhluk hidup yang berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam sistem hidup. Hingga saat ini terdapat sekitar lebih dari 2000 jenis enzim yang teridentifikasi, pada sintesis enzim terjadi dalam sel dan sebagian besar enzim diperoleh dari ekstraksi dari jaringan tanpa merusak fungsinya. Reaksi seluler dalam suatu sel dengan tanpa adanya enzim dapat menyebabkan reaksi berjalan dengan sangat lambat (Maryam, 2009).

Secara katalitik enzim dapat menjalankan suatu reaksi hidrolisis, adisi, oksidasi-reduksi, transfer radikal, isomerisasi, dan juga pemutusan rantai karbon (Sumardjo, 2008). Dalam reaksi katalisis dengan jumlah enzim dan substrat yang sangat banyak tidak akan terjadi kesalahan, karena enzim bersifat

spesifik dalam mengkatalis reaksi. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia tanpa adanya pembentukan produk samping, enzim memiliki tenaga katalitik yang jauh lebih besar dari katalisator sintetik dan aktivitas katalitiknya tergantung pada integritas struktur sebagai protein. Dalam reaksi hidrolisis protein, enzim proteolitik atau protease berperan sebagai katalis dimana terjadi pemecahan atau pemutusan ikatan rantai peptida (peptidase). Peptidase tersebut terbagi menjadi dua macam, yaitu endopeptidase dan eksopeptidase (Maryam, 2009).

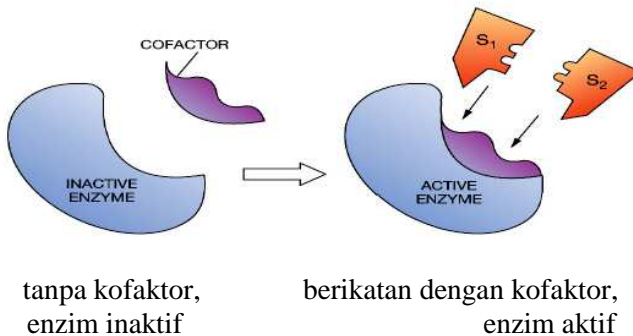
Enzim terdapat di dalam sel, tepatnya di protoplasma, mitokondria dan ribosom. Di dalam tubuh enzim berupa cairan kolodial, seperti air ludah, cairan lambung, cairan pankreas, dan darah. Pada pembentukan enzim memerlukan asam amino sebagai bahan baku, enzim dapat mengalami denaturasi yang menyebabkan enzim tidak aktif atau tidak dapat bekerja, hal tersebut dipengaruhi oleh adanya pemanasan, penambahan asam-basa dan pelarut organik tertentu, serta gelombang ultrasonik dan gelombang ultraviolet. Enzim terdapat dua macam, yaitu enzim monomerik yang terdiri dari satu rantai polipeptida (seperti enzim tripsin, kimotripsin, dan pepsin) dan enzim oligomerik yang terdiri dari dua atau lebih rantai polipeptida (seperti enzim piruvat kinase, enolase, heksokinase, dan laktat dehidrogenase) (Sumardjo, 2008).

2.3.1 Isolasi Enzim dan Pemurnian Enzim

Penelitian pertama mengenai isolasi enzim yang diambil dari ekstrak tumbuhan dan hewan secara intensif dilakukan pada tahun 1920 di Jerman oleh Willstater bersama teman-temannya, dengan menggunakan tanah liat dan aluminium hidroksida sebagai bahan untuk mengadsorpsi enzim. Pemilihan adsorben yang baik, maka dapat dilakukan proses adsorpsi dengan selektif sehingga enzim dapat dibebaskan dari campuran. Adsorben dicuci dengan pelarut yang sesuai, enzim dilarutkan kembali, dan dimurnikan. Sedangkan pada tahun 1926 Sumner membutuhkan

waktu lebih dari sepuluh tahun untuk dapat berhasil mengisolasi dan mengkristalisasi enzim urease yang pada kenyataannya enzim mempunyai struktur protein (Sumardjo, 2008).

Pada Gambar 2.4 dibawah menunjukkan enzim juga merupakan protein yang dapat mengikat zat selain protein, zat tersebut adalah kofaktor atau kokatalis. Kofaktor dapat berupa organik atau ion logam (Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , dan Ni^{2+}), kofaktor yang terikat kuat dengan protein disebut gugus prostetik dan kofaktor yang mudah lepas dari protein disebut koenzim (Sumardjo, 2008). Adanya kofaktor dan koenzim dapat mempermudah pengikatan substrat dengan enzim.



Gambar 2.3 Aktivitas kofaktor terhadap enzim.

Enzim dapat diisolasi secara ekstraseluler dan intraseluler, enzim yang diisolasi secara ekstraseluler disebut juga eksoenzim yang merupakan enzim yang bekerja di luar sel. Enzim yang diisolasi secara intraseluler disebut juga endoenzim yang merupakan enzim yang bekerja di dalam sel. Isolasi enzim ekstraseluler lebih mudah, karena tidak memerlukan pemecahan sel dan enzim dari sel mudah dipisahkan dari pengotor, serta tidak mudah bercampur dengan bahan sel lainnya.

Pada tahap awal pemurnian enzim dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan enzim ekstraseluler dengan sisa sel. Dari proses sentrifugasi akan didapatkan supernatan yang jernih dan

terdapat endapan yang terikat pada dasar tabung yang terpisahkan secara normal. Tahap kedua dalam pemurnian enzim dilakukan proses presipitasi untuk pemekatan protein dan presipitasi itu sendiri merupakan proses penambahan senyawa penggumpal yang dapat memisahkan protein dari bahan lain, sehingga protein murni. Proses presipitasi dapat dilakukan dengan cara penambahan pelarut organik, penambahan garam, dan terjadinya perubahan suhu. Garam yang digunakan, seperti natrium klorida (NaCl) dan natrium sulfat atau ammonium sulfat, dimana garam ammonium sulfat sering digunakan. Karena garam ammonium sulfat mempunyai daya pengendapannya efektif, stabil terhadap banyak enzim, dapat digunakan dalam kondisi pH apapun, dan harganya murah. Pada penambahan garam dalam konsentrasi tinggi dapat menurunkan kelarutan protein, karena terjadi peningkatan muatan listrik di sekitar protein dan menarik molekul air (reaksi hidrofobik) dapat mengendapkan protein (*salting out*). Protein yang memiliki hidrofobik tinggi mengendap lebih dulu dan yang memiliki residu non-polar tetap larut meskipun dalam kondisi konsentrasi garam yang paling tinggi sekalipun.

2.3.2 Cara Kerja Enzim

Enzim adalah protein yang bermolekul besar, dan substrat adalah senyawa yang dipengaruhi enzim yang bermolekul relatif kecil, sisi aktif pada enzim sebagai tempat menempelnya substrat dan terjadinya reaksi kimia yang ditunjukkan pada Gambar 2.4 (Sumardjo, 2008).

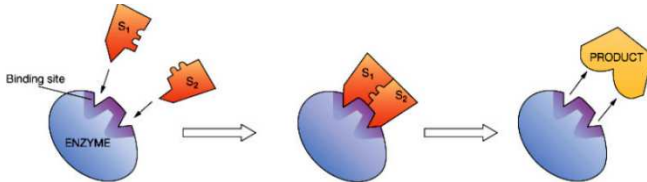
Prinsip kerja enzim, yaitu dimulai dari enzim (E) bergabung dengan substrat (S) membentuk kompleks enzim substrat (ES), kemudian kompleks enzim substrat terurai menjadi produk yang tidak terikat oleh enzim (A+B+C) dan enzim bebas (E). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:





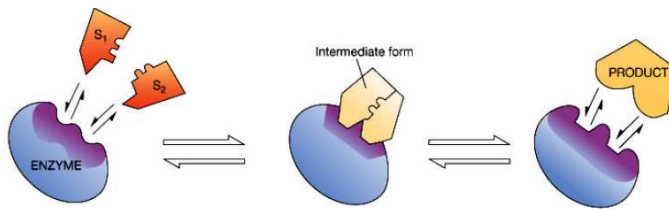
Gambar 2.4 Sisi aktif enzim dan substrat.

Selain itu kita juga dapat memahami prinsip kerja dari enzim dengan ulasan gambar model lock and key pada Gambar 2.5, yaitu bagian substrat mempunyai bentuk yang sesuai dengan sisi aktif enzim. Substrat ditarik sisi aktif enzim yang sesuai untuk substrat tersebut, sehingga terbentuk kompleks enzim substrat (Sumardjo, 2008).



Gambar 2.5 Model lock and key enzim.

Selain model Lock and Key, juga terdapat teori penyesuaian (Induced fit theory) ditunjukkan pada Gambar 2.6, menjelaskan tentang kerja enzim berdasarkan struktur enzim pada *binding site* yang lentur, sehingga mampu menyesuaikan struktur dengan struktur substrat secara spesifik. Ketika substrat berikatan pada *binding site* suatu enzim, maka reaksi enzimatik dapat berjalan dan reaksi enzimatik pada umumnya berjalan reversible.



Gambar 2.6 Model induced fit theory.

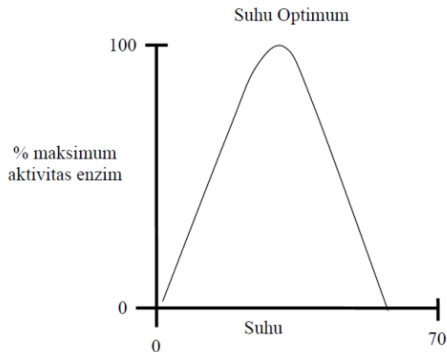
2.3.3 Faktor Aktivitas Enzim

Terjadinya perubahan suhu dan pH sangat mempengaruhi kerja enzim, dimana konsentrasi enzim dan kofaktor, konsentrasi substrat, dan inhibitor juga mempengaruhi kecepatan reaksi enzim. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim sebagai berikut:

2.3.3.1 Suhu

Enzim merupakan senyawa protein yang sangat peka terhadap perubahan suhu, dimana pada kondisi suhu yang tinggi dapat meningkatkan laju reaksi enzim baik yang tidak dikatalisis maupun yang dikatalisis oleh enzim. Peningkatan laju reaksi enzim diikuti dengan perubahan struktur enzim dan hilangnya aktivitas katalitik dari enzim. Enzim mampu mempercepat reaksi kimia secara optimum pada kondisi suhu optimum pula, dan pada kondisi suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada enzim, yaitu terjadinya denaturasi enzim. Denaturasi juga dapat terjadi pada suhu rendah (bukan beku atau *chilling*) yang disebut denaturasi dingin (contohnya: laktosa dehidrogenase (LDH), katalase, dan glutamate dehidrogenase). Pada saat enzim dalam kondisi suhu rendah secara tiba-tiba dapat menyebabkan hilangnya aktivitas enzim yang diekstraksi begitu juga struktur enzim mengalami perubahan. Enzim pada suhu 0°C dalam

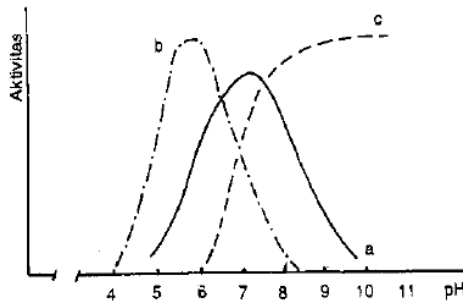
keadaan non-aktif dan aktif kembali pada suhu normal sesuai pada Gambar 2.7 (Rodwell, 1987).



Gambar 2.7 Pengaruh suhu dengan aktivitas enzim.

2.3.3.2 pH

Enzim mempunyai konstanta ionisasi pada gugus asam maupun basa, terutama pada gugus terminal hidroksil dan terminal amino, dimana terjadinya perubahan kereaktifan enzim karena adanya perubahan pH lingkungan. pH mempengaruhi struktur protein pada sisi aktif, sehingga enzim dapat berikatan. Adanya perubahan pH lingkungan pada enzim, karena terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks substrat enzim, daya tingkatan, dan perubahan laju reaksi. Aktivitas suatu enzim dapat bekerja secara optimum pada pH optimum, dimana pada kondisi tersebut enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Enzim dapat mengalami denaturasi protein dalam kondisi pH rendah maupun tinggi. Pada setiap enzim mempunyai daya pH optimum yang berbeda dan bahkan satu jenis enzim pun dapat mempunyai daya pH optimum yang berbeda, karena pH optimum bergantung pada sumber enzim juga. Contoh pada enzim pepsinogen yang bekerja secara optimum pada pH sangat asam (rendah), enzim amylase optimum pada pH netral atau sedikit basa, dan enzim maltase optimum pada pH basa (tinggi) (Winarno, 1989).

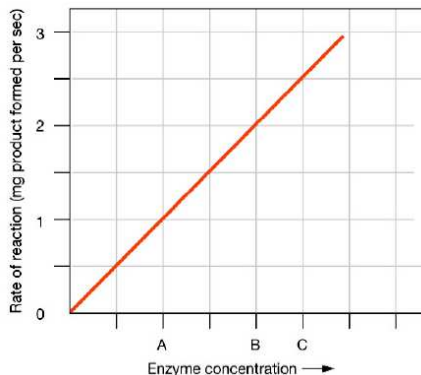


Gambar 2.8 Pengaruh pH lingkungan pada aktivitas enzim.

Berdasarkan Gambar 2.8 diatas menunjukkan bahwa: (a) kurva hubungan aktivitas enzim dengan pH optimum pada umumnya yang berbentuk seperti lonceng, (b) pH optimum tergantung pada enzim, (c) pada beberapa enzim memiliki aktivitas yang tidak tergantung pada pH.

2.3.3.3 Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim yang lebih tinggi dari konsentrasi substratnya dapat mempercepat laju reaksi pada pembentukan produk.

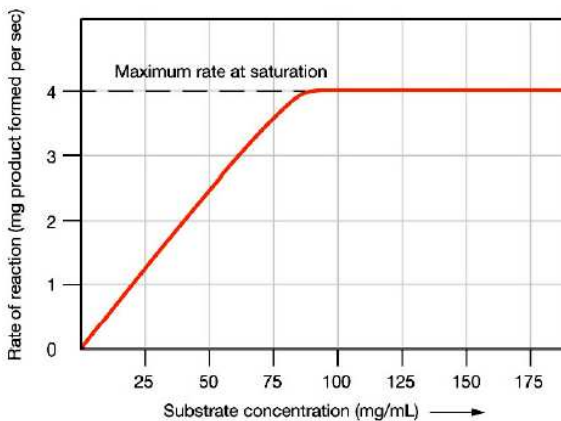


Gambar 2.9 Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim.

Pada Gambar 2.9 menunjukkan bahwa laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, dimana semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi pula laju reaksinya dengan batas konsentrasi tertentu. Ketika hasil hidrolisis substrat pada kondisi konstan saat naiknya konsentrasi enzim, maka penambahan enzim sudah tidak efektif lagi (Winarno, 1989).

2.3.3.4 Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat berpengaruh pada laju reaksi awal dalam kondisi konsentrasi enzim konstan, dimana konsentrasi enzim konstan pada saat konsentrasi substrat rendah. Pada Gambar 2.10 menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi substrat dapat meningkatkan laju reaksi sampai pada batas maksimum laju reaksi, yaitu batas maksimum laju reaksi menunjukkan bahwa enzim dalam kondisi jenuh dengan substrat, sehingga reaksi berjalan konstan. Peningkatan laju reaksi sesuai dengan penambahan konsentrasi substrat. Ketika reaksi dalam kondisi konstan, maka penambahan konsentrasi substrat tidak dapat meningkatkan laju reaksi lagi, karena tidak ada lagi enzim bebas (Lehninger, 1982).



Gambar 2.10 Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi substrat.

2.3.3.5 Inhibitor

Inhibitor adalah zat kimia yang dapat menghambat aktivitas enzim, dimana suatu inhibitor dapat menyerang sisi aktif enzim, sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat dan fungsi katalitik enzim juga terganggu. Ketika konsentrasi inhibitor besar dapat memperlambat laju reaksi, sehingga dapat menghambat pembentukan produk. Perlakuan untuk dapat mencegah adanya inhibitor dapat dilakukan dengan meningkatkan jumlah konsentrasi enzim, kofaktor, dan substrat. Inhibitor digolongkan menjadi dua, yaitu:

1. Inhibitor Irreversible

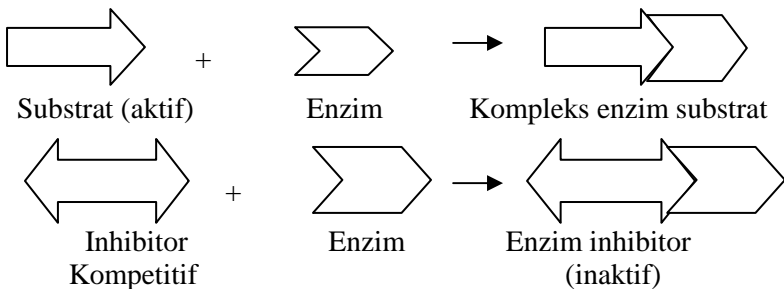
Inhibitor yang dapat merusak suatu gugus fungsional suatu molekul enzim yang penting bagi aktivitas katalitik enzim. Dimana inhibitor tersebut dapat meningkat bersamaan dengan peningkatan suhu.

2. Inhibitor Reversible

Inhibitor reversible ini dibedakan menjadi dua bagian, yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor non-kompetitif.

3. Inhibitor Kompetitif

Gambar 2.11 menunjukkan inhibitor atau zat penghambat yang bersaing dengan molekul substrat, dimana struktur inhibitor kompetitif mirip dengan struktur substrat.

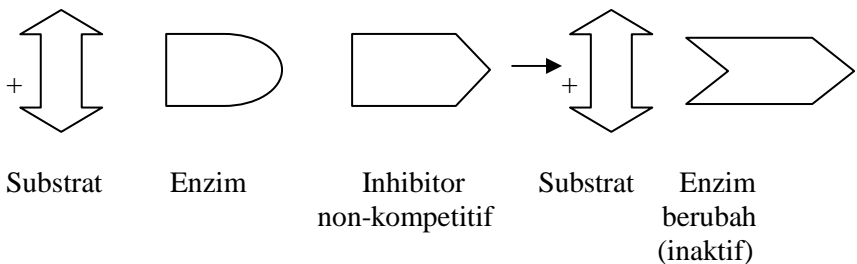


Gambar 2.11 Aktivitas inhibitor kompetitif.

Inhibitor kompetitif bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim dan ketika sisi aktif enzim berikatan dengan inhibitor kompetitif, maka enzim tersebut tidak dapat mengubahnya. Penghambatan oleh inhibitor kompetitif tersebut dapat dihindari dengan cara meningkatkan konsentrasi substrat.

4. Inhibitor Non-kompetitif

Gambar 2.12 menunjukkan inhibitor atau penghambat yang tidak bersaing dengan molekul substrat. Inhibitor non-kompetitif ini menempel pada sisi regulasi enzim, sehingga dapat mengubah konformasi molekul enzim dan menyebabkan enzim dalam kondisi inaktif. Penghambatan inhibitor non-kompetitif tersebut tidak dapat dikurangi dengan adanya penambahan konsentrasi substrat, karena daya hambat inhibitor non-kompetitif dipengaruhi kadar inhibitor dan afinitas inhibitor terhadap enzim. Inhibitor dapat berikatan dengan enzim bebas maupun kompleks enzim substrat.



Gambar 2.12 Aktivitas inhibitor non-kompetitif.

2.3.4 Aktivator Enzim

Aktivator enzim merupakan suatu ion atau senyawa non-protein yang dapat meningkatkan laju reaksi enzimatik, dimana ion-ion anorganik tersebut disebut juga kofaktor. Beberapa contoh enzim yang mempunyai kofaktor ditunjukkan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Contoh enzim yang mempunyai kofaktor.

No.	Jenis Kofaktor	Enzim
1.	Fe^{2+}	Oksidase sitokrom, Katalase, Peroksidase
2.	Cu^{2+}	Oksidase sitokrom
3.	Zn^{2+}	Polymerase DNA, Anhidrase karbonik, Dehidrogenase
4.	Mg^{2+}	Heksokinase, 6-fosfatase glukosa
5.	Mn^{2+}	Arginase
6.	K^{+}	Kinase piruvat
7.	Ni^{2+}	Urease
8.	Se	Peroksidase glutatation

Kofaktor dapat mengubah bentuk sisi aktif, sehingga dapat ditemplei substrat tertentu. Sisi yang berikatan dengan kofaktor enzim disebut sisi alosterik. Macam-macam kofaktor enzim sebagai berikut:

1. Koenzim

Koenzim merupakan kofaktor enzim berupa senyawa organik (seperti vitamin) yang berikatan secara non-kovalen dengan enzim. Beberapa contoh enzim yang mengandung koenzim ditunjukkan pada tabel 2.4.

Tabel 2.4 Contoh enzim yang mengandung koenzim.

No.	Jenis Koenzim	Senyawa dipindahkan
1.	Tiamin pirofosfat	Aldehida
2.	Flavin Adenine Dinukleotida (FAD)	Atom hidrogen
3.	Nikotinamida Adenin Dinukleotida (NAD)	Ion hibrida
4.	Koenzim A	Gugus asil
5.	Piridoksal fosfat	Gugus amino
6.	Koenzim B ₁₂	Gugus alkil
7.	Biotin	CO ₂
8.	Terahidrofolat	Gugus satu karbon

2. Gugus prostetik

Gugus prostetik merupakan suatu kofaktor berupa senyawa anorganik (seperti mineral) yang berikatan secara kovalen dengan enzim. Contohnya Cl^- dan Ca^{2+} pada enzim amilase, Fe pada hemoglobin, dan Mg pada klorofil. Dan untuk enzim yang berikatan dengan kofaktor disebut holoenzim.

2.3.5 Klasifikasi Enzim

Tabel 2.5 menunjukkan bahwa enzim mempunyai tata nama yang kompleks berdasarkan sistem penggolongan pada reaksi yang dikatalisisnya, tetapi banyak enzim yang dikenal dengan nama umum. Nama enzim yang pada umumnya diturunkan dari nama reaktan spesifik utama dengan adanya tambahan akhiran *-ase*.

Tabel 2.5 Klasifikasi enzim berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis.

Kelompok Enzim	Jenis Reaksi
Oksidoreduktase	Pemindahan elektron (sebagai elektron, atom hidrogen atau ion hidrida) dari senyawa ke suatu akseptor
Transferase	Pemindahan sebuah gugus fungsional (gugus asil, amino, metal atau fosfat)
Hidrolase	Pemindahan ikatan C-O, C-N atau C-S dengan penambahan H_2O pada ikatan
Liase	Penambahan gugus ke ikatan rangkap atau pembentukan ikatan rangkap
Isomerase	Pemindahan gugus di dalam molekul untuk menghasilkan bentuk isomerik
Ligase	Pembentukan ikatan C-C, C-S, C-O, dan C-N disertai penguraian ikatan energi tinggi (ATP)

(Marks, Marks, & Smith, 2000)

2.4 Enzim Bromelin pada Tanaman Nanas

Sejak tahun 1970 enzim memiliki peran penting dalam bidang kesehatan maupun industri. Enzim merupakan protein yang mampu mempercepat laju reaksi kimia pada suhu dan drajat keasaman yang sesuai dengan kondisi enzim tersebut (Masri, 2014).

Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas, protein dalam nanas sekitar setengah bagiannya mengandung protease bromelin. Diantara beberapa jenis buah yang mengandung protease, buah nanas inilah yang merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi pada buah yang sudah matang (Wuryanti, 2006). Enzim bromelin ini dapat diperoleh dalam tanaman nanas dengan cara mengisolasi ekstrak bagian dari tanaman nanas tersebut. Enzim bromelin berbentuk serbuk amori berwarna putih bening sampai kekuning-kuningan, memiliki bau yang khas, dan dapat larut sebagian dalam aseton, eter, dan CHCl_3 . Masuk dalam golongan sufrihidril yang mengandung enzim proteolitik, selain itu juga mengandung asam fosfat, peroksida, beberapa protease inhibitor dan organik yang dapat mengikat kalsium (Masri, 2014).

Enzim bromelin menghidrolisis protein yang mengandung ikatan peptida menjadi asam amino yang lebih sederhana. Dalam pencernaan protein tersebut ikatan peptida terputus dengan adanya penyisipan komponen air, yaitu H dan OH pada ujung rantai. Enzim bromelin yang merupakan suatu enzim endopeptidase yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) di sisi aktifnya, dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator, dan logam berat (Maryam, 2009). Sistein endopeptidase dapat memotong ikatan peptida pada gugus karbonil, yang ditemukan dalam ariginin atau asam amino aromatik (fenilalanin atau tirosin). Enzim bromelin juga termasuk dalam golongan glikoprotein, golongan glikoprotein merupakan protein yang mengandung satu bagian oligosakarida pada setiap molekulnya yang berikatan secara kovalen dengan polipeptida enzim tersebut

(Masri, 2014). Enzim bromelin mempunyai kemiripan dengan enzim papain, renin (renet), dan fisin yang merupakan enzim protease. Hidrolisis pada enzim protease terjadi karena putusnya ikatan peptida dari ikatan substrat, dimana enzim protease tersebut sebagai katalisator dalam sel (Masri, 2014). Selain itu, enzim tersebut memiliki kemampuan untuk mencerna protein 1000 kali beratnya. Enzim bromelin dapat diisolasi dengan cara sentrifugasi, kemudian dilakukan pemurnian dengan cara pengendapan, gel filtrasi, dan dengan kromatografi penukar ion (Maryam, 2009).

Aktivitas spesifik enzim bromelin dalam tanaman nanas tersebut optimum pada suhu 50°C dan pada pH 6,5-7, ketika suhu diatas 50°C dan pH tidak sesuai batas optimumnya maka keaktifan dari enzim bromelin tersebut akan menurun (Masri, 2014). Tingkat aktivitas spesifik enzim yang tinggi dapat bernilai tinggi pula nilai ekonominya. Tingkat kemurnian atau jumlah enzim bromelin dapat diketahui dengan penentuan aktivitas spesifik, aktivitas spesifik dinyatakan dalam satuan unit aktivitas enzim per milligram rotein total atau U/mg (Kusuma, Laksmiwati, Arsa, & Ratnayani, 2015). Enzim bromelin pada tanaman nanas mampu mempercepat proses pelepasan lendir pada saat proses fermentasi, serta mampu memecah senyawa protein dan gel, sehingga enzim bromelin tersebut dapat mempercepat waktu proses fermentasi tempe dan menurunkan kadar kafein pada kopi (Oktadina, Argo, & Hermanto, 2013).

2.4.1 Khasiat Enzim Bromelin dalam Tanaman Nanas

Untuk mengkonsumsi buah nanas kita harus mengetahui efek bagi kesehatan tubuh kita maupun ketika dicampurkan dengan makanan lainnya, sehingga kita tidak kehilangan manfaat pada buah nanas itu sendiri maupun makanan lainnya. Seperti buah nanas yang dicampur dengan makan yang mengandung gelatin, yoghurt, atau keju lunak, enzim bromelin pada buah nanas tersebut dapat menghancurkan protein dalam susu, daging,

dan gelatin, sehingga makanan tersebut menjadi berair (Dalimartha & Adrian, 2011).

Khasiat enzim bromelin dari buah nanas bagi kesehatan tubuh manusia antara lain:

1. Menguraikan protein
2. Antibakteri
3. Mengurangi peradangan (anti-inflamasi)
4. Menghambat penggumpalan trombosit
5. Menghancurkan trombus yang menyumbat pembuluh darah (aktivitas fibrinolitik)
6. Melarutkan dahak pada saluran nafas seperti pneumonia dan bronkhitis
7. Menghambat pertumbuhan sel kanker
8. Membentuk kolagen di kulit, tulang, dan tulang rawan untuk kekuatan tulang
9. Memperlancar buang air besar bagi penderita sembelit
10. Memperbaiki penyakit jantung dan pembuluh darah (kardiovaskuler) (Dalimartha & Adrian, 2011)
11. Meningkatkan fungsi paru-paru pada penderita infeksi saluran pernapasan
12. Menyembuhkan luka bakar
13. Mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi (Kumaunang & Kamu, 2011)

Pada penelitian laboratorium yang pernah dilakukan di Universitas Connecticut, diketahui bahwa enzim bromelin dapat menurunkan eosinofil sampai setengahnya. Eosinofil adalah bagian sel darah putih yang berhubungan pada tanda alergi, jika jumlahnya semakin meningkat maka dapat diprediksi bahwa adanya alergi, seperti bersin di pagi hari, asma, eksim, dan gatal-gatal. Penelitian yang dilakukan pada manusia, enzim bromelin dapat diperkirakan mampu meningkatkan penyerapan antibiotik, terutama antibiotik sejenis amoksisilin dan tetrasiklin sehingga kadarnya dalam darah meningkat. Walaupun masih harus diteliti lebih lanjut, enzim bromelin tersebut juga mampu meningkatkan

kerja obat kemotradi (antikanker) *5-fluorouracil* dan *vincristine*. Penggunaan enzim bromelin dengan obat penurun tekanan darah golongan *ACE-inhibitor* (captopril dan lisinopril) dapat menurunkan tekanan darah lebih dari yang diperkirakan (dratis). Pada beberapa ahli pun memperkirakan bahwa enzim bromelin dapat menyebabkan kantuk dan rasa tenang, sehingga dimanfaatkan sebagai bahan obat seperti antidepresan, diazepam, dan luminal (Dalimartha & Adrian, 2011). Orang yang mempunyai riwayat kesehatan resiko perdarahan dan yang sedang mengkonsumsi obat sejenis antikoagulan (seperti warfin dan heparin), obat antiplatelet (aspirin, plavix/clopidogrel), serta obat golongan NSAIDs atau *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (ibuprofen, naproxen) tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas berlebihan. Hal tersebut dikarenakan khasiat dari fibrinolitik dan proteolitik dalam enzim bromelin dapat meningkatkan resiko pendarahan dalam tubuh (Dalimartha & Adrian, 2011).

Manfaat enzim bromelin dalam bidang industri dan manfaat lainnya antara lain:

1. Industri makanan dan minuman
2. Industri tekstil
3. Industri kertas
4. Penjernihan bir
5. Industri farmasi
6. Pengempuk daging
7. Sebagai bahan kontrasepsi KB
8. Industri kosmetik (Masri, 2014)
9. Produksi hidrolisat protein
10. Pelarutan protein gandum
11. Penyamakan kulit

2.5 Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim merupakan enzim yang dibatasi atau dilokalisasi untuk dapat menggunakan enzim secara kontinyu, untuk dapat mengamobilisasi suatu enzim hanya bisa dilakukan

pada enzim yang bernilai mahal dan jumlah substratnya sangat besar. Enzim yang telah diamobilisasi dapat dipisahkan dari campuran reaksi dengan cepat, produk hasil reaksi dapat diperoleh tanpa adanya kontaminasi pada enzim, dan enzim dapat digunakan secara kontinyu. Amobilisasi enzim juga dapat dianggap sebagai perubahan suatu enzim dari keadaan bergerak yang larut dalam air menjadi keadaan tidak bergerak yang tidak dapat larut. Amobilisasi mencegah terjadinya difusi enzim ke dalam campuran reaksi dan mudah mendapatkan kembali suatu enzim dari aliran produk dengan teknik pemisahan zat padat atau cair yang sederhana. Terdapat 5 metode amobilisasi, yaitu:

1. Absorpsi enzim dengan bahan pendukung
2. Pengikatan enzim secara kovalen dengan bahan pendukung
3. Pengikatan silang enzim dengan bahan pendukung
4. Penjeratan enzim dengan bahan pendukung
5. Mikroenkapsulasi (Wuryanti, 2006)

Amobilisasi enzim dapat dilakukan secara tradisional, yaitu dengan melarutkan enzim bebas ke dalam larutan substrat secara langsung. Ketika dilakukan penggunaan enzim secara langsung dalam skala besar, maka ada risikonya yaitu:

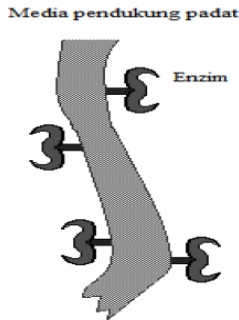
1. Enzim yang bebas hanya digunakan sekali proses, karena enzim sulit dipisahkan dari produknya.
2. Inaktivasi enzim pada akhir reaksi, sehingga enzim dapat digunakan lebih efisien dan berulang kali (Wuryanti, 2006).

2.5.1 Teknik Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim merupakan pengikatan enzim atau penempatan enzim dalam media bahan pendukung berupa padatan. Pada amobilisasi enzim terdapat beberapa teknik yang digunakan untuk amobilisasi enzim, yaitu:

2.5.1.1 Carrier-binding

Gambar 2.13 menunjukkan salah satu teknik amobilisasi enzim, yaitu teknik *carrier-binding*.



Gambar 2.13 Amobilisasi enzim dengan teknik *carrier-binding*.

Enzim yang diikat oleh suatu bahan pendukung yang tidak larut dalam air dengan jumlah enzim terikat dan aktivitas enzim amobil yang tergantung pada karakteristik bahan pendukung. Pada pemilihan bahan pendukung disesuaikan dengan karakteristik enzim, seperti ukuran partikel, luas permukaan, komposisi zat kimia pada enzim, dan perbandingan gugus hidrofob dengan hidrofil. Perbandingan gugus hidrofil dan konsentrasi enzim yang tinggi menghasilkan aktivitas enzim amobil yang lebih tinggi. Jenis bahan pendukung yang sering digunakan adalah turunan polisakarida, seperti senyawa selulosa, agarosa, dekstran, dan gel poliakrilamid. Teknik *carrier-binding* terdapat tiga metode, yaitu:

1. Adsorpsi Fisik

Berdasarkan adsorpsi enzim pada permukaan bahan pendukung yang tidak larut dalam air, dimana metode ini enzim tidak mengalami perubahan struktur. Enzim dapat mengalami desorpsi, karena adanya perubahan suhu dan pH. Lepasnya enzim yang terikat pada bahan pendukung, karena lemahnya kekuatan ikatan enzim dengan bahan pendukung.

2. Pengikatan secara Ionik

Berdasarkan pada enzim yang terikat secara ionik pada bahan pendukung yang memiliki residu penukar ion, bahan yang memiliki residu penukar ion, seperti polisakarida dan polimer sintetis. Amobilisasi enzim dengan pengikatan secara ionik dapat terjadi sedikit perubahan struktur dan sisi aktif enzim.

3. Pengikatan secara Kovalen

Berdasarkan pada pengikatan enzim pada bahan pendukung melalui ikatan kovalen. Amobilisasi metode ini dapat terjadi perubahan struktur enzim, sehingga dapat terjadi penurunan aktivitas enzim yang signifikan. Gugus fungsi yang digunakan dalam amobilisasi enzim dengan pengikatan secara kovalen, seperti gugus amino, hidroksil, karboksil, dan gugus fenolik.

2.5.1.2 Pengikatan Silang (*Cross-linking*)

Teknik amobilisasi enzim pada Gambar 2.14 berdasarkan pada pengikatan silang enzim dengan bahan pendukung yang dilakukan oleh pereaksi bifungsi atau multifungsi.



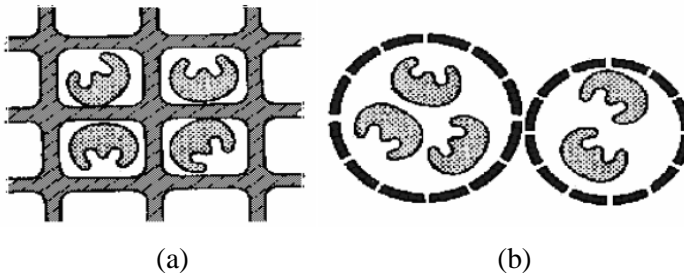
Gambar 2.14 Amobilisasi enzim dengan teknik *cross-linking*.

Enzim yang terikat cukup kuat, sehingga kemungkinan terjadinya desorpsi enzim sangat kecil, namun dapat terjadi perubahan pada sisi aktif enzim dan aktivitas enzim amobil menjadi sangat rendah. Pereaksi yang digunakan untuk

pengikatan silang enzim dengan bahan pendukung adalah senyawa glutaraldehid.

2.5.1.3 Penjebakan Enzim (*Entrapping*)

Teknik ini berdasarkan pada penempatan enzim dalam kisi-kisi matriks polimer atau membran, dimana enzim tidak terikat pada kisi membran. Penjebakan dalam kisi dapat menggunakan polimer alami maupun polimer sintetis. Polimer sintetis menggunakan poliakrilamid dan polivinilalkohol, serta polimer alami menggunakan pati. Teknik amobilisasi enzim menggunakan teknik *entrapping* terdapat dua media penjebakan, yaitu ditunjukkan pada Gambar 2.15.



Gambar 2.15 (a) penjebakan dalam matriks, dan (b) penjebakan dalam kapsul berukuran mikro (semipermeabel).

2.5.2 Kelebihan Amobilisasi

Pada enzim yang telah dilakukan amobilisasi, maka enzim amobil tersebut dapat digunakan kembali secara berulang kali, reaksi dapat dihentikan secara cepat dengan memindahkan enzim dari suatu larutan reaksi, larutan tidak terkontaminasi oleh enzim tersebut, dan enzim dapat distabilkan oleh ikatan. Pada proses analitik memiliki waktu paruh yang cukup panjang, sehingga kecepatan peluruhan dapat diramalkan dan pembuatan

reagennya dapat dihemat, secara tidak langsung dapat menghemat anggaran dalam pemakaian enzim (Wuryanti, 2006).

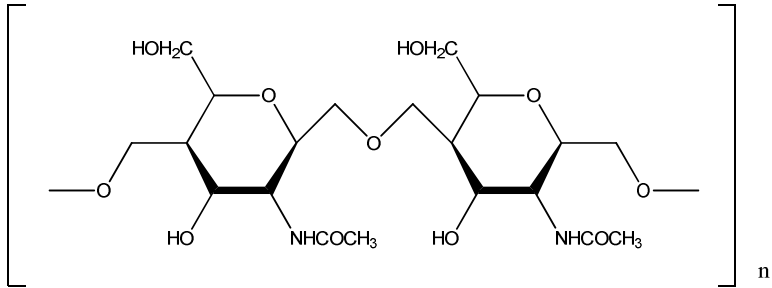
2.6 Kitosan

Kitin merupakan salah satu jenis polisakarida terbanyak kedua setelah selulosa, dimana kitin banyak ditemukan pada eksoskeleton invertebrata, seperti pada cangkang kepiting, udang, ketam, dan serangga, serta kitin juga dapat ditemukan pada dinding sel fungi. Selain itu kitin juga merupakan senyawa yang tidak beracun dan mudah terdegradasi, salah satu turunan senyawa dari kitin ini adalah senyawa kitosan (Bhuvana, 2006). Senyawa kitosan dapat diperoleh dari mengkonversi kitin, senyawa kitin dari ekstrak eksoskeleton invertebrata. Salah satunya kitosan yang diambil dari senyawa kitin dalam kepala dan kulit udang, hal tersebut dikarenakan kepala dan kulit udang mengandung 20%-30% senyawa kitin, hampir 20% mengandung protein, dan 40%-50% mineral. Untuk mengubah senyawa kitin menjadi senyawa kitosan dilakukan beberapa tahap, antara lain:

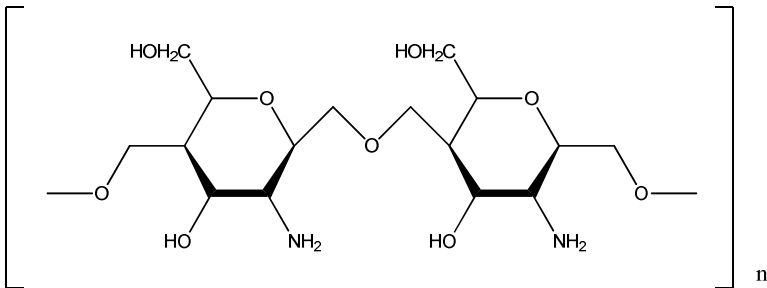
1. Tahap demineralisasi, yaitu tahapan untuk menghilangkan mineral dalam senyawa kitin dengan menggunakan larutan asam kuat.
2. Tahap deproteinasi, yaitu tahapan untuk menghilangkan protein dalam senyawa kitin, biasanya menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) karena lebih mudah dan efektif. Protein diekstraksi sebagai natrium proteinat yang larut.
3. Tahap deasetilasi, yaitu tahapan menghilangkan gugus asetil dalam senyawa kitin dengan menggunakan larutan basa pekat, sehingga menjadi polimer D-glukosamin dan mampu berikatan dengan protein (Rismana, 2003).

Setelah dilakukan tahap deproteinasi diperoleh senyawa kitin yang ditunjukkan pada Gambar 2.16 dan hasil tahap deasetilasi kitin diperoleh senyawa kitosan yang ditunjukkan pada

Gambar 2.17. Perbedaan dari kedua senyawa tersebut ditandai lepasnya gugus amida ($\text{C}=\text{O}$) pada senyawa kitin.



Gambar 2.16 Struktur senyawa kitin.



Gambar 2.17 Struktur senyawa kitosan $[\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4]_n$.

Kitosan merupakan amina polisakarida hasil deasetilasi kitin, polimer rantai panjang glukosamin (2-amino-2-deoksi-D-glukosa) dan merupakan biopolmer alam bersifat polisakatonik yang dapat diaplikasikan untuk adsorben logam, penyerap zat warna tekstil, bahan pembuatan kosmetik, dan agen bakteri. Di alam senyawa kitosan pada umumnya berikatan dengan protein, mineral, dan berbagai macam pigmen. Kitosan memiliki rumus molekul $[\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4]_n$ dengan berat molekul sebesar $2,5 \times 10^5$ Dalton, bentuknya serpihan putih kekuningan, tidak berbau, gugus amino dan gugus hidroksil bersifat reaktif. Kitosan dapat larut dalam larutan basa kuat, asam sulfat, pelarut organik

(alkohol, aseton, dimetilformamida, dan dimetilsulfoksida), dan tidak larut dalam air. Kitosan ini juga larut dalam asamasetat 1%-2%, mudah larut dalam asam format 0,2%-1%, dan dapat larut dalam asam klorida dan asam nitrat, namun hanya larut sedikit. Kitosan terdiri dari dua polimer, yaitu poli (2-deoksi-2-asetilamin-2-glukosa) dan poli (2-deoksi-2-aminoglukosa) yang berikatan beta di (1,4). Senyawa kitosan ini mampu membentuk gel dalam bentuk N-methyl morpholine-N-oxide yang dimanfaatkan untuk formulasi obat (Wibowo, 2006). Selain itu, kitosan juga memiliki sifat biologi antara lain:

1. Bersifat hemostatik, spermisidal, fungistatik, antitumor, dan antikolesterol.
2. Dapat berikatan dengan sel mamalia dan mikroba.
3. Biokompatibel, yaitu sebagai polimer alam yang tidak terdapat efek samping, tidak beracun, mudah diuraikan mikroba, dan tidak dapat dicerna.
4. Sebagai depresan pada sistem saraf pusat, sehingga mudah dibentuk seperti menjadi membran dan serat yang sangat bermanfaat.
5. Senyawa kitosan mengandung enzim lysosim dan gugus aminopolisakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, sehingga kitosan dapat dimanfaatkan sebagai anti-mikroba. Polikation muatan positif dalam kitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang, dimana daya hambatnya bergantung pada konsentrasi pelarut kitosan.

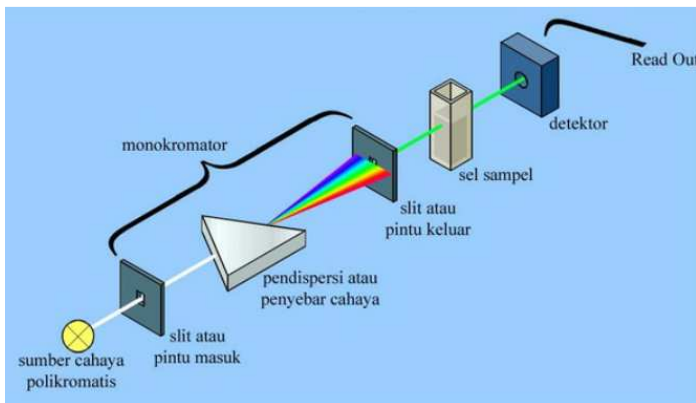
2.7 Prinsip Kerja Alat Instrumen

Dalam melakukan penelitian di laboratorium kita dapat menemukan berbagai macam alat instrument yang mempunyai fungsi masing-masing. Sebelum kita melakukan penelitian dan menggunakan alat-alat instrument sangat disarankan untuk mengetahui prinsip kerja dan fungsi dari masing-masing alat instrument yang hendak kita gunakan dalam penelitian, agar tidak

melakukan kesalahan dalam pemakaian dan hasil penelitian kita akurat. Apabila terjadi kesalahan dalam pemakaian, maka alat instrumen bisa rusak dan kejadian yang lebih buruk lagi dapat terjadi kebakaran, mengingat harga alat instrument sangat mahal dan tempat pembeliannya juga tidak terjangkau, jauh lebih baik untuk selalu berhati-hati dalam pemakaian alat instrumen di laboratorium. Prinsip kerja dari beberapa alat instrumen sebagai berikut:

2.7.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah suatu metode analisis instrumental berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan suatu materi. Radiasi elektromagnetik itu sendiri adalah sinar yang datang dengan panjang gelombang UV-Vis pada suatu materi, sedangkan materi adalah suatu molekul atau senyawa kimia. Prinsip kerja dari instrumen spektrofotometer UV-Vis, yaitu suatu radiasi melewati suatu molekul dengan energi yang cukup pada daerah panjang gelombang UV-Vis, maka energi akan diserap dan terjadi transisi elektromagnetik yang memiliki energi lebih tinggi di dalam molekul dari keadaan dasar, sehingga molekul tereksitasi (Maryam, 2009).



Gambar 2.18 Instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Gambar 2.18 menjelaskan cara kerja instrumen spektrofotometer UV-Vis adalah cahaya dari lampu deuterium maupun wolfram bersifat polikromatis diteruskan melewati lensa menuju ke monokromator dan filter cahaya fotometer, kemudian mengubah cahaya poliromatis menjadi monokromatis. Cahaya pada panjang gelombang tertentu dilewatkan pada sampel, sehingga terdapat cahaya yang diserap dan dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan diterima oleh detektor, kemudian pada detektor menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel.

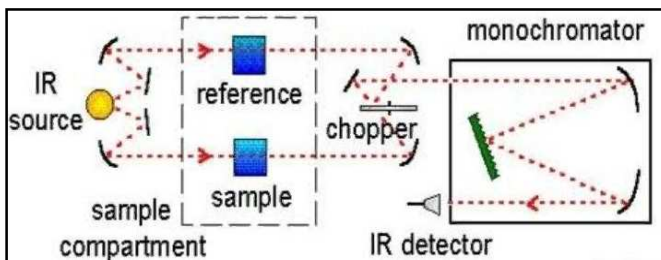
2.7.2 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan suatu metode analisis instrumental yang digunakan untuk memisahkan sel atau organel subseluler dan juga untuk pemisahan molekular. Prinsip kerja dari sentrifugasi ini berdasarkan fenomena bahwa partikel yang tersuspensi dalam suatu wadah (dalam bentuk tabung atau lainnya) yang akan mengendap ke dasar wadah tersebut, karena adanya pengaruh gravitasi. Laju pengendapan dapat ditingkatkan dengan cara meningkatkan pengaruh gravisional terhadap partikel, dengan cara menempatkan tabung berisi suspensi partikel ke dalam rotor suatu mesin sentrifugasi, kemudian diputar dengan kecepatan tinggi. Kecepatan proses pengendapan pada suatu partikel atau molekul berdasarkan berat molekul dan bentuk partikel, semakin tinggi berat molekulnya maka kecepatannya semakin tinggi. Gerakan suatu partikel melalui cairan akan dipengaruhi oleh gaya gesekan, partikel yang mempunyai bentuk lebih kompak akan bergerak lebih cepat dalam larutan (Yuwono, 2008).

2.7.3 Spektroskopi Inframerah (FTIR)

Spektroskopi inframerah merupakan suatu metode analisis instrumentasi senyawa kimia yang menggunakan radiasi sinar inframerah untuk mengetahui gugus fungsi dalam suatu

senyawa organik. Prinsip kerja instrumen FTIR, yaitu radiasi infra merah dilewatkan sampel dan diserap molekul (sampel), sehingga terjadi transisi antara tingkat vibrasi dasar dan vibrasi tereksitasi. Vibrasi molekul hanya terjadi bila molekul memiliki dua atom atau lebih. Sinar yang tidak diserap akan diteruskan menuju detektor, sehingga dapat memperoleh daerah serapan (cm^{-1}) tertentu yang menunjukkan suatu gugus fungsi. Vibrasi dapat terjadi karena energi dari infra merah tidak cukup kuat untuk terjadinya eksitasi elektron.



Gambar 2.19 Skema kerja alat FTIR.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan dan instrumentasi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu: *sentrifuge*, *shaker*, *spektrofotometer Spectronic Genesis*, *magnetic stirer*, *hot plate*, *autoklaf*, lemari es, blender, neraca analitik, erlenmeyer, oven, beker gelas, gelas ukur, labu ukur, pipet volum, pipet tetes, cawan petri, pengaduk, botol timbang, pH meter, dan peralatan gelas lainnya.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu: kepala dan kulit udang, buah nanas, air limbah tahu, NaOH, kasein, reagen biuret, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, HCl, aquades, glutaraldehid 5%, dan buffer fosfat pH 6.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Isolasi Kitin menjadi Kitosan

3.2.1.1 Preparasi Cuplikan dari Kepala dan Kulit Udang

Udang sebanyak 250 g diambil kepala dan kulitnya, kemudian dibersihkan dengan air mengalir sampai bersih dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 15-20 menit sampai kering. Setelah kering, kepala dan kulit udang tersebut digiling sampai halus, kemudian diayak.

3.2.1.2 Tahap Deproteinasi Kitin

Cuplikan dimasukkan dalam beker gelas dan ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (w/v), kemudian diletakkan diatas penangas air pada suhu 65°C selama 2 jam. Residu dicuci dengan air sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 4 jam.

3.2.1.3 Tahap Demineralisasi Kitin

Hasil dari tahap deproteinasi ditambahkan HCl 1N dengan perbandingan 1:15 (w/v) sambil diaduk dengan menggunakan *stirer* selama 30 menit pada suhu kamar. Residu dicuci dengan air sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 4 jam. Serbuk kitin diambil secukupnya untuk uji FTIR.

3.2.1.4 Tahap Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan

Hasil dari demineralisasi merupakan serbuk kitin, serbuk kitin direaksikan dengan NaOH 50% pada perbandingan 1:10 (w/v) diatas penangas air pada suhu 100°C selama 4 jam sambil diaduk dengan *stirer*. Residu dicuci dengan air sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 4 jam. Serbuk kitosan diambil secukupnya untuk uji FTIR.

3.2.2 Pengambilan Sampel Air Limbah Pabrik Tahu

Air limbah pabrik tahu yang belum masuk ke penampungan limbah diambil dan disimpan dalam botol. Kemudian sampel air limbah pabrik tahu disentrifugasi pada kecepatan 3000rpm selama 20 menit. Supernatan dipisahkan dari residunya dengan cara dekantasi, supernatan yang didapatkan tersebut disimpan dan digunakan sebagai substrat, kemudian ditentukan kandungan proteinnya dengan cara kolorimetri.

3.2.3 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu secara Kolorometri

3.2.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Standar Larutan Kasein

Aquades basa dibuat dari 10mL NaOH 0,4N yang dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian diambil 5 mL dicampurkan dengan kasein sebanyak 5 g dan diencerkan dengan aquades sampai 100 mL. Larutan kasein yang telah dibuat sebelumnya diambil 7 mL dan ditambahkan 3 mL reagen biuret, kemudian diaduk sampai homogen dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C. Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, larutan kasein standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-590 nm dengan menggunakan blanko dari campuran 7 mL aquades dan 3 mL reagen biuret.

Stok larutan kasein sebelumnya (5000 ppm) dibuat dengan variasi konsentrasi 0 ppm; 500 ppm (1,0 mL); 1000 ppm (2,0 mL); 1500 ppm (3,0mL); 2000 ppm (4,0 mL); 2500 ppm (5,0 mL); dan 3000 ppm (6,0 mL), kemudian masing-masing ditambahkan 3 mL reagen biuret dan diencerkan dengan aquades sampai 10 mL. Larutan diaduk dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C, diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi larutan kasein dengan absorbansinya.

3.2.3.2 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu

Air limbah pabrik tahu diambil sebanyak 7 mL dan ditambahkan reagen biuret sebanyak 3 mL, kemudian diaduk dan diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Kandungan protein air limbah pabrik tahu ditentukan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer sesuai λ_{maks} yang telah diperoleh sebelumnya. Absorbansi yang diperoleh dikonversikan dengan hasil kurva standar yang telah dibuat

dengan persamaan garis regresi dan dikalikan dengan faktor pengenceran reagen biuret.

3.2.4 Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas

Buah nanas kupas dicuci bersih, diblender sampai halus dan disaring. Sari buah nanas yang diperoleh disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit.

Supernatan sari buah nanas diambil sebanyak 80 mL dan diendapkan dengan ammonium sulfat jenuh sebanyak 20 mL (untuk fraksi pengendapan larutan ammonium sulfat jenuh sebesar 20%). Pengulangan dilakukan dengan variasi tingkat kejenuhan ammonium sulfat jenuh 30%; 40%; dan 50%. Larutan disimpan dalam lemari es semalaman. Endapan yang terbentuk disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, kemudian endapan di masukkan ke dalam freezer sampai kering.

Ekstrak enzim yang telah kering diambil sebanyak 2,5 mg dilarutkan dalam 9 mL larutan kasein (3000 ppm) dan ditambahkan aquades sampai total volume 10 mL, kemudian dikocok dengan kecepatan 110 rpm selama 1 jam. Larutan hasil inkubasi diambil sebanyak 7 mL dan ditambahkan reagen biuret sebanyak 3 mL untuk menentukan sisa protein. Campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Fraksi enzim bromelin buah nanas yang dapat menghasilkan degradasi protein paling banyak dilakukan perbanyakan untuk prosedur selanjutnya.

3.2.5 Amobilisasi Enzim Bromelin dengan Matriks Kitosan

Enzim bromelin diambil sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam gelas piala ukuran 100 mL, ditambahkan 3,6 mL larutan buffer pH 6, dan ditambahkan 50 mg kitosan. Campuran didiamkan dalam lemari es selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,4 mL glutaraldehid 5%, campuran digoyang perlahan dan disimpan dalam lemari es semalaman. Campuran

disaring dan dibilas dengan aquades 10 mL sebanyak tiga kali, dan diencerkan sampai 50 mL. Air bilasan diukur absorbansinya sebagai jumlah enzim yang tidak teramobilisasi untuk mengetahui jumlah enzim bromelin yang teramobil.

3.2.6 Pengurangan Kandungan Protein pada Air Limbah Pabrik Tahu dengan Enzim Bromelin Amobil

Air limbah pabrik tahu diambil 20 mL sebanyak lima kali, masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer A, B, C, D, dan E, untuk larutan di Erlenmeyer A sebagai larutan kontrol yang tanpa ditambahkan enzim bromelin. Larutan cuplikan pada Erlenmeyer B, C, D, dan E ditambahkan enzim bromelin amobil (2 mg; 3 mg; 4 mg; dan 5 mg) yang telah dibuat sebelumnya. Masing-masing campuran dalam Erlenmeyer dimasukkan ke dalam *shaker* dengan kecepatan 110 rpm pada variasi waktu inkubasi 2 jam; 4 jam; 6 jam; 8 jam; dan 10 jam. Penentuan kandungan protein dalam air limbah pabrik tahu dilakukan sesuai dengan prosedur sebelumnya. Pengurangan kandungan protein pada air limbah pabrik tahu dengan enzim bromelin amobil akan diperoleh jumlah enzim bromelin amobil dan waktu inkubasi optimum.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Kitin

Senyawa kitin dapat diisolasi dari dinding jamur dan lapisan eksoskeleton hewan invertebrata, salah satu hewan invertebrata adalah udang. Cangkang udang mengandung 20%-30% senyawa kitin, $\pm 20\%$ protein, dan 40%-50% mineral. Dua ratus lima puluh gram udang diambil kepala dan kulitnya, kemudian dibersihkan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 15-20 menit sampai kering. Setelah kering, kepala dan kulit udang tersebut digiling sampai halus, kemudian diayak. Serbuk cangkang udang yang didapatkan berwarna kecoklatan dan berupa serbuk kasar.

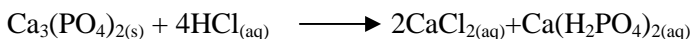
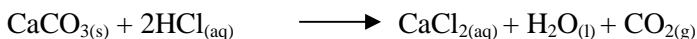
Isolasi kitin dari cangkang udang diperlukan dua tahap, yaitu tahap deproteinasi untuk menghilangkan kandungan protein pada cangkang udang dan tahap demineralisasi untuk menghilangkan kandungan mineral pada cangkang udang. Senyawa kitosan diperoleh dari konversi senyawa kitin melalui tahap deasetilasi untuk menghilangkan gugus N-asetil asetamida pada senyawa kitin, sehingga menjadi gugus amino bebas yang disebut senyawa kitosan.

Tahap deproteinasi bertujuan untuk menghilangkan protein pada cangkang udang, kitin berikatan secara kovalen dengan protein yang dapat mengganggu proses isolasi kitin. Pemutusan ikatan kovalen dapat menggunakan basa kuat pada konsentrasi tinggi, maka dapat menggunakan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (w/v) pada suhu 65°C selama dua jam. Adanya proses pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH, sehingga proses degradasi protein dapat berlangsung sempurna. Terekstraknya protein dari cangkang udang ditandai dengan terbentuknya filtrat yang berwarna coklat kekuningan, protein yang terekstrak

terbentuk sebagai natrium proteinat yang larut. Untuk menghilangkan sisa larutan NaOH pada cangkang udang dilakukan pencucian dengan menggunakan aquades sampai filtrat tak berwarna dan pH netral.

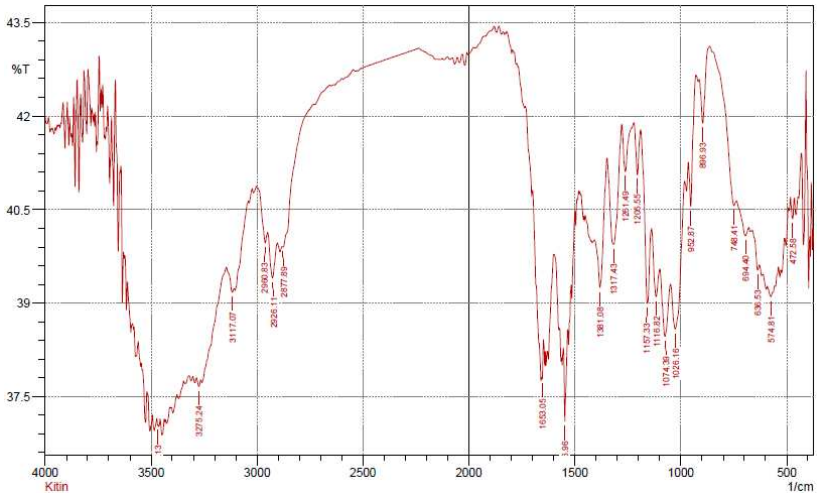
Selanjutnya dilakukan tahap demineralisasi yang bertujuan untuk menghilangkan garam mineral yang terdapat pada cangkang udang, cangkang udang mengandung garam mineral salah satunya berupa CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Garam mineral terikat secara fisik pada cangkang udang, sehingga mudah dipisahkan dan tidak perlu dilakukan pemanasan dan untuk menghilangkan garam mineral dari cangkang udang dapat menggunakan HCl 1 N (asam kuat) dengan perbandingan 1:15 (w/v) diaduk menggunakan *stirrer* selama 30 menit pada suhu kamar. Sisa HCl pada cangkang udang dapat dihilangkan dengan dilakukan pencucian cuplikan menggunakan aquades sampai tak berwarna dan pH netral.

Pada tahap demineralisasi senyawa kalsium karbonat (CaCO_3) bereaksi dengan asam klorida (HCl) menghasilkan kalsium karbonat, air, dan gas karbondioksida, sedangkan senyawa kalsium fosfat bereaksi dengan larutan asam klorida menghasilkan kalsium dihidrogen fosfat ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) yang larut dalam air. Terjadinya reaksi pemisahan mineral dari cangkang udang tersebut ditandai dengan terbentuknya gas karbondioksida (CO_2) berupa gelembung udara pada saat ditambahkan larutan asam klorida dalam cuplikan. Reaksi demineralisasi tersebut adalah sebagai berikut:



Hasil isolasi kitin yang diperoleh dari cangkang udang adalah senyawa kitin dapat dibuktikan dengan melakukan karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). Pada Gambar 4.1 dibawah

menunjukkan spektra senyawa kitin hasil dari tahap deproteinasi dan demineralisasi ekstrak cangkang udang.



Gambar 4.1 Spektra FTIR senyawa Kitin.

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa hasil karakterisasi FTIR pembentukan senyawa kitin pada penelitian ini diperoleh serapan bilangan gelombang pada daerah $3468,13 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya serapan gugus hidroksil (vibrasi ulur OH), sedangkan pada daerah serapan bilangan gelombang $3275,24 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus amina (vibrasi ulur NH). Pada daerah serapan bilangan gelombang $2877,89 \text{ cm}^{-1}$ terdapat ikatan CH (vibrasi ulur), gugus amida (ikatan C=O) muncul pada daerah serapan $1653,05 \text{ cm}^{-1}$, ikatan NH bengkokan muncul pada daerah serapan $1546,96 \text{ cm}^{-1}$, dan gugus amina (ikatan NH kibasan) muncul pada daerah serapan $694,4 \text{ cm}^{-1}$. Pada serapan $1653,05 \text{ cm}^{-1}$ memiliki intensitas yang tinggi.

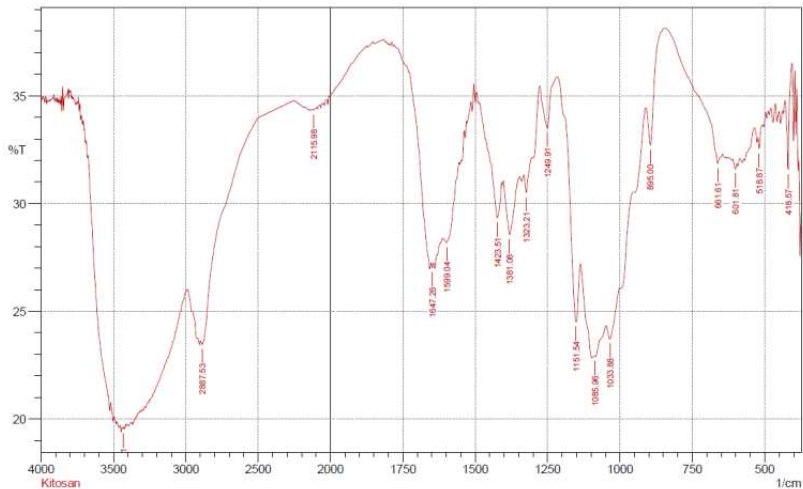
4.2 Deasetilasi Kitin

Tahap deasetilasi digunakan untuk menghilangkan gugus asetil ($-\text{COOCH}_3$) pada gugus asetil amino (kitin) menjadi gugus amino bebas (kitosan) dengan menggunakan larutan basa kuat. Kitin mempunyai struktur kristal yang panjang dan ikatan antara ion nitrogen dengan gugus karboksil yang kuat, sehingga pada tahap deasetilasi untuk memutus ikatan gugus asetil dengan nitrogen menjadi gugus amino bebas digunakan larutan basa kuat dengan konsentrasi tinggi dan waktu lama. Terjadinya reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis amida oleh basa dimana kitin sebagai amida dan NaOH sebagai basa. Pertama, terjadi reaksi adisi dimana gugus $-\text{OH}$ masuk ke gugus NHCOCH_3 menjadi HNHCOOCH_3 . Kedua, terjadi reaksi eliminasi dimana gugus $\text{CH}_3\text{COO}-$ dieliminasi (pemutusan ikatan), sehingga diperoleh gugus amida.

Tahap deasetilasi ini menggunakan larutan NaOH 50% dengan perbandingan 1:10 (w/v) dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 4 jam, untuk menghilangkan sisa larutan NaOH, cuplikan dicuci dengan aquades sampai pH netral, kemudian dikeringkan dan diperoleh kitosan. Tahap deasetilasi dengan basa kuat dan dilakukan pemanasan dapat menyebabkan gugus asetil pada kitin hilang atau terputus, sehingga menyebabkan kitosan bermuatan positif dan dapat larut dalam asam organik (misalnya asam formiat atau asam asetat). Hasil deasetilasi kitin menjadi kitosan yang diperoleh dari kitin cangkang udang adalah senyawa kitosan dapat dibuktikan dengan melakukan karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa hasil dari karakterisasi FTIR pembentukan senyawa kitosan pada penelitian ini diperoleh serapan bilangan gelombang pada daerah $3433,41\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya serapan gugus hidroksil (vibrasi ulur $-\text{OH}$), sedangkan pada daerah serapan bilangan gelombang $2887,53\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan vibrasi ulur $-\text{CH}$. Pada daerah

serapan bilangan gelombang $1647,26 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan masih adanya gugus amida (ikatan C=O), namun memiliki intensitas puncak yang pendek, karena adanya pengurangan gugus C=O pada saat proses deasetilasi.



Gambar 4.2 Spektra senyawa kitosan.

4.3 Pengambilan Sampel Air Limbah Pabrik Tahu

Air limbah pabrik tahu yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari industri kecil produksi tahu di Desa Sepande, Sidoarjo, Jawa Timur. Air limbah tahu yang digunakan adalah limbah cair tahu yang sebelum masuk ke saluran pembuangan limbah cair tahu, dimana tempat pembuangan limbah cair tahu tersebut diarahkan ke saluran air atau selokan. Kita tidak bisa mengambil sampel limbah cair tahu dari penampungan limbah cair tahu, karena tidak ada tempat penampungan khusus limbah cair tahu dan dapat dipastikan bahwa limbah cair tahu tersebut sudah terkontaminasi. Temperatur limbah cair tahu tersebut adalah $\pm 45^{\circ}\text{C}$, hal tersebut dikarenakan proses pembuatan tahu dilakukan pada kondisi temperatur tinggi untuk memperoleh hasil

rendemen yang lebih banyak. pH limbah cair tahu tersebut 4,90 dimana limbah cair tahu bersifat asam, dikarenakan pada proses pembuatan tahu dari ekstrak kedelai digunakan asam cuka (kalsium sulfat) untuk menghasilkan kembang tahu.

Sampel air limbah pabrik tahu tersebut disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan limbah cair tahu dari zat yang tak terlarut. Supernatan dipisahkan dari residunya dengan cara dekantasi, supernatan yang diperoleh tersebut disimpan dalam lemari es untuk menghindari terjadinya kontaminasi mikroba. Pada kondisi temperatur rendah mikroba tidak dapat bekerja atau inaktif. Supernatan yang diperoleh berwarna kuning dan residunya berwarna kuning muda, supernatan tersebut digunakan sebagai substrat, kemudian dilakukan uji pengurangan kandungan protein limbah cair tahu tersebut dengan menggunakan enzim bromelin dari buah nanas yang sudah di amobilisasi menggunakan senyawa kitosan dari cangkang udang.

4.4 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu secara Kolorimetri

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Standar Larutan Kasein

Penentuan kandungan protein menggunakan kasein sebagai substratnya, dimana kasein sukar larut dalam air namun larut sempurna dalam basa. Sehingga untuk melarutkan kasein digunakan aquades basa, aquades basa dibuat dari 10 mL NaOH 0,4 N dilarutkan dalam 100 mL aquades. Larutan stok kasein 5000 ppm yang dibuat dari 5 mL aquades basa yang dicampurkan dengan kasein sebanyak 5 g dan diencerkan dengan aquades sampai 100 mL. Larutan kasein 5000 ppm diambil 7 mL dan ditambahkan 3 mL reagen biuret, kemudian diaduk sampai homogen dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C. Inkubasi dilakukan bertujuan untuk menyempurnakan reaksi

antara reagen biuret dengan protein dan optimum pada kondisi temperatur ruang, dimana reaksi akan mengalami denaturasi protein pada temperatur tinggi.

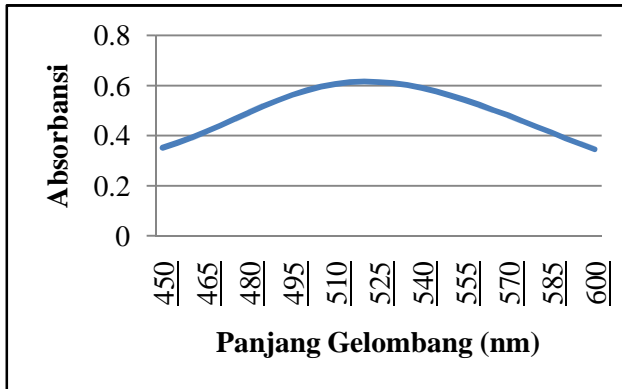
Kompleks yang terbentuk antara reagen biuret yang berwarna biru bereaksi dengan larutan kasein yang dapat membentuk larutan berwarna ungu kemerahan ditunjukkan pada Gambar 4.3. Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, larutan standar kasein 5000 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-600 nm, karena warna komplementer yang dihasilkan adalah berwarna ungu kemerahan yang mempunyai interval panjang gelombang 500-590 nm. Blanko yang digunakan dibuat dari campuran 7 mL aquades dan 3 mL reagen biuret, warna yang terbentuk dari blanko tersebut adalah berwarna biru yang sesuai dengan warna reagen biuret.



Gambar 4.3 Penampang larutan kasein 5000 ppm dan blanko.

Kurva pada Gambar 4.4 dibawah menunjukkan bahwa setiap kenaikan panjang gelombang dari 450 nm mengalami kenaikan nilai absorbansi pada panjang gelombang 520 nm, pada panjang gelombang 525 nm mulai mengalami penurunan nilai absorbansi seiring bertambahnya nilai panjang gelombang. Pada data kurva absorbansi terhadap panjang gelombang tersebut diperoleh panjang gelombang maksimum pada 520 nm dengan nilai absorbansi 0,616. Nilai panjang gelombang maksimum yang diperoleh sesuai dengan interval panjang gelombang warna

komplementer ungu kemerahan. Nilai absorbansi diperoleh karena terjadi pengabsorbsian sinar tampak pada kompleks reagen biuret dengan larutan kasein.

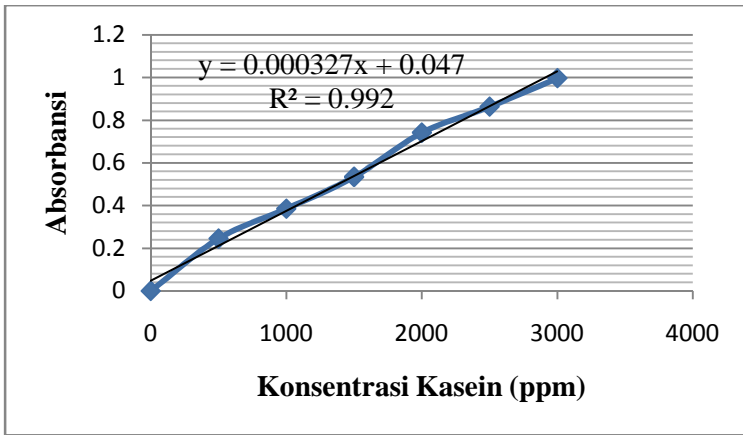


Gambar 4.4 Kurva Absorbansi terhadap Panjang Gelombang.

Pembuatan kurva standar kasein dari stok larutan kasein sebelumnya (5000 ppm) dibuat variasi konsentrasi 0 ppm; 500 ppm (1,0 mL); 1000 ppm (2,0 mL); 1500 ppm (3,0 mL); 2000 ppm (4,0 mL); 2500 ppm (5,0 mL); dan 3000 ppm (6,0 mL) dan masing-masing ditambahkan 3 mL reagen biuret, kemudian diencerkan dengan aquades sampai 10 mL. Larutan diaduk dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh, yaitu 520 nm.

Kurva standar dibuat dengan cara mengulutkan absorbansi sebagai sumbu ordinat atau sumbu y dan konsentrasi kasein sebagai sumbu absis atau sumbu x, dimana nilai absorbansi akan mengalami kenaikan seiring bertambahnya konsentrasi kasein yang digunakan, sehingga diperoleh persamaan garis antara konsentrasi kasein dengan absorbansi, yaitu:

$$y = 0,000327x + 0,047$$



Gambar 4.5 Kurva standar protein kasein.

Analisa dengan spektrofotometri, maka hubungan linier antara konsentrasi dengan absorbansi harus memenuhi persamaan Hukum Lambert-Beer. Persamaan Hukum Lambert-Beer tersebut dinyatakan sebagai $A = \epsilon \cdot b \cdot c$, dimana A adalah absorbansi dan c adalah konsentrasi. Jadi, dapat disimpulkan bahwa nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi. Pada kenyataannya untuk memperoleh data yang dapat memenuhi persamaan Hukum Lambert-Beer tersebut cukup sulit, sehingga perlu dilakukan ekstrapolasi melalui titik nol, dimana persamaan garis tersebut adalah $y = 0,000327x + 0,047$, setelah dieksplotasi melalui titik nol maka diperoleh persamaan:

$$y = 0.000349x$$

Harga koefisien korelasi atau R^2 digunakan untuk menguji keabsahan kelinearan suatu kurva kalibrasi ditunjukkan pada Gambar 4.5, dimana semakin baik kurva kalibrasi maka data akan semakin dekat dengan garis lereng kurva kalibrasi. Harga R^2 yang menentukan kesempurnaan kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansi. Harga koefisien

korelasi mendekati +1 atau -1 dan jika harga $R^2=0$ maka data yang diperoleh dinyatakan tidak adanya korelasi antara dua variable yang diamati. Pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh harga koefisien korelasi dari kurva adalah $R^2=0,992$ yang menyatakan bahwa kelinearan kurva standar sangat baik.

4.4.2 Penentuan Kandungan Protein dalam Air Limbah Pabrik Tahu

Air limbah tahu yang telah disentrifuge diperoleh supernatan yang lebih jernih dari sebelumnya yang berwarna putih keruh sedikit kekuningan dan residunya berwarna putih kekuningan. Supernatan diambil sebanyak 7 mL dan ditambahkan reagen biuret sebanyak 3 mL, kemudian diaduk sampai homogen dan diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Kandungan protein air limbah pabrik tahu ditentukan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum, yaitu 520 nm, dengan dilakukan perulangan sebanyak tiga kali untuk mendapatkan nilai absorbansi yang konstan. Nilai hasil absorbansi dikonversikan dengan persamaan garis regresi melalui titik nol hasil kurva standar yang telah dibuat.



Gambar 4.6 Supernatan air limbah tahu.

Harga absorbansi yang diperoleh dari air limbah tahu adalah 0,108, kemudian nilai dari absorbansi tersebut dikonversikan ke dalam persamaan regresi kurva standar yang telah diperoleh sebelumnya. Hasil dari konversi diperoleh konsentrasi protein yang terukur dari air limbah tahu tersebut adalah sebesar 309,456 ppm. Dengan adanya faktor pengenceran dan penambahan reagen biuret, maka diperoleh kandungan konsentrasi protein yang sebenarnya dari air limbah tahu adalah sebesar 442,079 ppm. Dari konsentrasi protein yang terukur dan konsentrasi protein yang sebenarnya dapat diketahui bahwa konsentrasi protein air limbah pabrik tahu berkurang sebesar 132,623 ppm.

Nilai baku mutu air limbah industri tahu di Jawa Timur yang telah ditetapkan pada Peraturan Gubernur Jawa Timur No. 72 Tahun 2013, yaitu kandungan bahan organik berupa protein 130-450 mg/L (130-450 ppm), dimana limbah cair tahu termasuk dalam limbah *biodegradable* (limbah yang dapat diuraikan oleh mikroorganisme). Pada penelitian ini diperoleh kandungan protein air limbah tahu masih dalam range ketetapan nilai baku mutu, sehingga air limbah tahu tersebut masih aman jika dibuang langsung ke air sungai yang mengalir. Apabila air limbah tahu tersebut tidak dibuang pada sungai yang mengalir dan volum air limbah tahu yang berlebihan, maka dapat menyebabkan terjadinya pembusukan (degradasi) oleh mikroba dan pada akhirnya menimbulkan bau busuk. Oleh sebab itu, untuk menanggulangi terjadinya polusi air limbah tahu, maka perlu dilakukan pengurangan kandungan protein pada tempat pembuangan air limbah tahu.

4.5 Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas

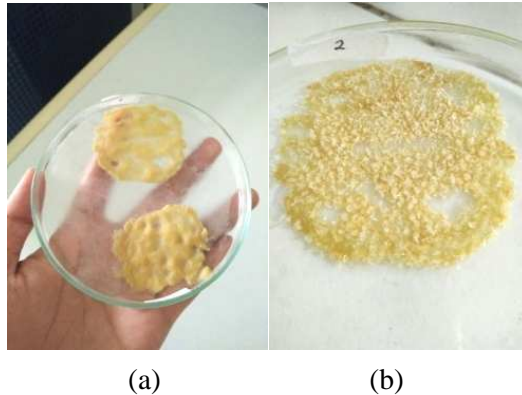
Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas, protein dalam nanas sekitar setengah bagiannya mengandung protease bromelin dan merupakan sumber enzim protease dengan konsentrasi tinggi pada buah nanas yang sudah

matang (Wuryanti, 2006). Enzim bromelin ini dapat diperoleh dengan cara mengisolasi ekstrak bagian dari tanaman nanas tersebut (Masri, 2014). Enzim bromelin dapat diisolasi dengan cara sentrifugasi, kemudian dilakukan pemurnian dengan cara pengendapan, gel filtrasi, dan dengan kromatografi penukar ion (Maryam, 2009).

Buah nanas yang sudah matang dan dikupas kulitnya, dicuci bersih dan diblender sampai halus, kemudian disaring. Sari buah nanas yang diperoleh disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dari residunya. Supernatan berwarna kuning dipisahkan dari residunya yang juga berwarna kuning dengan cara dekantasi. Supernatan sari buah nanas diambil sebanyak 80 mL dan diendapkan dengan larutan ammonium sulfat jenuh sebanyak 20 mL (untuk fraksi pengendapan larutan ammonium sulfat jenuh sebesar 20%). Pengulangan dilakukan dengan variasi tingkat kejenuhan ammonium sulfat jenuh 30%; 40%; dan 50%, fraksinasi tersebut dilakukan untuk mengetahui tingkat kejenuhan ammonium sulfat pada fraksi enzim bromelin dalam mendegradasi protein yang terbesar. Larutan disimpan dalam lemari es semalaman. Endapan yang terbentuk disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, kemudian endapan di masukkan ke dalam *freezer* sampai kering. Endapan yang terbentuk berwarna putih kekuningan tersebut merupakan enzim bromelin.

Gambar 4.7 menunjukkan hasil dari enzim bromelin dari buah nanas yang sudah diamobilisasi, terdapat perbedaan antara enzim bromelin kasar dan enzim bromelin kering. Enzim bromelin yang sudah kering berbentuk kristalin berwarna kuning sedikit kecokelatan. Terjadinya pengendapan enzim akibat adanya penambahan garam, pengendapan dipengaruhi oleh konsentrasi dan jumlah muatan pada setiap ion yang terdapat dalam suatu larutan. Dimana perlu diketahui bahwa jenis garam yang paling efektif untuk pemurnian enzim adalah garam yang memiliki muatan anion ganda (misalnya fosfat, sulfat, dan nitrat). Jenis

garam tersebut memiliki sifat kelarutan yang tinggi dalam air dan tidak mengganggu bentuk maupun fungsi dari enzim tersebut.



Gambar 4.7 Enzim bromelin: a) enzim bromelin kasar; b) enzim bromelin kering

Ekstrak enzim yang telah kering dari masing-masing faksi diambil sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 9 mL larutan kasein (3000 ppm), kemudian ditambahkan aquades sampai volume 10 mL. Konsentrasi kasein dalam 10 mL larutan tersebut sebesar 2700 ppm (27 mg), kemudian larutan dikocok dengan kecepatan 110 rpm selama 1 jam. Larutan tersebut diambil sebanyak 7 mL dan ditambahkan reagen biuret sebanyak 3 mL untuk menentukan sisa protein. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada $\lambda_{\text{maks}}=520 \text{ nm}$.

Tabel 4.1 diatas menunjukkan bahwa fraksi enzim bromelin kasar dengan penambahan larutan ammonium sulfat jenuh sebesar 30% mampu mendegradasi protein terbanyak, yaitu 11,10247 unit. Dari hasil yang diperoleh tersebut dapat dilakukan perbanyakkan isolasi enzim bromelin pada fraksinasi 30% dan berat enzim bromelin kasar pada fraksinasi 30% diperoleh sebesar 0,5288 gram.

Tabel 4.1 Aktivitas ptotein (kasein) yang terdegradasi oleh enzim bromelin kasar.

Fraksi Enzim	Aktivitas (unit)
20 %	10,28380
30%	11,10247
40%	10,82958
50%	10,01092

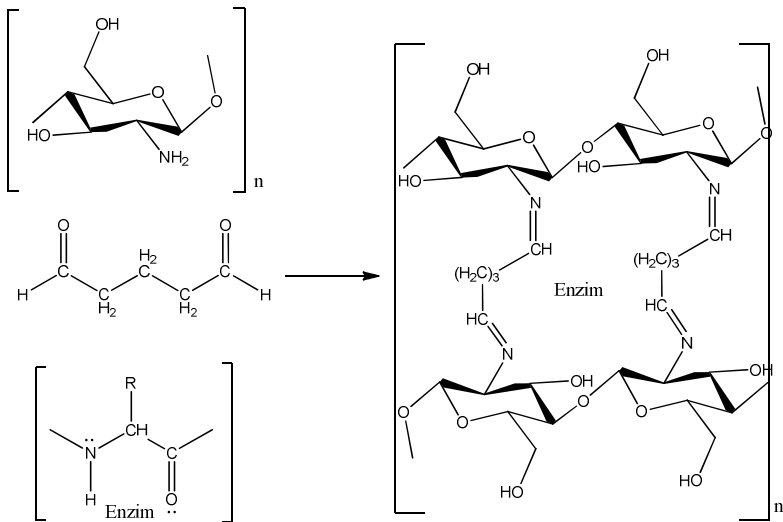
4.6 Amobilisasi Enzim Bromelin dengan Kitosan

Pada amobilisasi enzim bromelin ini menggunakan senyawa kitosan diekstrak dari cangkang udang sebagai matriks pendukungnya. Kitosan diambil sebanyak 50,1 mg dan enzim bromelin sebanyak 50,2 mg, dimasukkan ke dalam gelas piala ukuran 100 mL. Campuran ditambahkan 3,6 mL larutan buffer pH 6, dan diaduk secara perlahan. Campuran didiamkan dalam lemari es selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,4 mL glutaraldehid 5%, campuran digoyang perlahan dan disimpan dalam lemari es semalaman. Campuran disaring dan dibilas dengan aquades 10 mL sebanyak tiga kali, dan diencerkan sampai 50 mL. Air bilasan diukur kandungan proteinnya, filtrat tersebut sebagai jumlah enzim yang tidak teramobil atau enzim bebas untuk mengetahui jumlah enzim bromelin yang teramobil. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai absorbansinya sebesar 0,003 (konsentrasi terukur=8,59599 ppm) dan berat enzim bromelin amobil sebesar 66,54 mg, setelah dihitung maka dapat diketahui jumlah berat enzim yang tidak teramobil sebesar 0,61400 mg dan berat enzim yang teramobil sebesar 49,58600 mg (berat awal enzim 50,2 mg).

Kitosan merupakan polimer alam yang dapat digunakan untuk berikatan silang dengan agen pengikat, seperti glutaraldehid. Ikatan silang yang terjadi antara ujung glutaraldehid dengan ujung gugus amina pada kitosan merupakan

salah satu metode amobilisasi enzim, yaitu metode penjemputan. Enzim dapat terjebak diantara matriks pendukung kitosan yang saling berikatan silang dengan senyawa glutaraldehid.

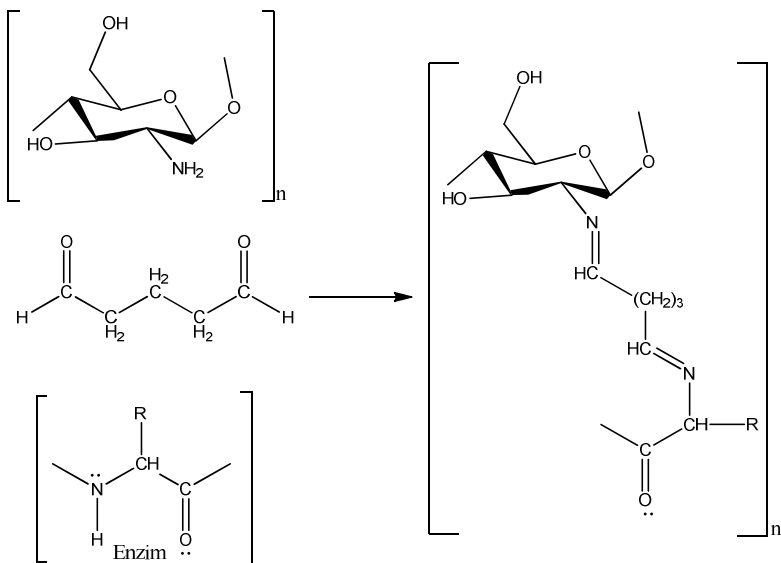
Amobilisasi dapat mencegah terjadinya difusi enzim ke dalam suatu campuran reaksi dan enzim dapat diperoleh kembali, sehingga enzim amobil dapat digunakan secara berulang kali. Reaksi dapat dihentikan dengan memisahkan enzim amobil dari larutan reaksi, secara otomatis reaksi akan berhenti dan larutan tidak akan terkontaminasi dengan keberadaan enzim amobil tersebut dan tanpa mengurangi aktivitas katalitiknya. Sehingga enzim amobil dapat digunakan untuk mengurangi kandungan protein dalam air limbah tahu.



Gambar 4.8 Amobilisasi enzim dengan metode penjemputan.

Gambar 4.8 menunjukkan reaksi glutaraldehid berikatan dengan ujung gugus amina senyawa kitosan pada kedua sisi, sehingga terjadi ikatan silang antar kitosan. Metode penjemputan adalah enzim terjebak diantara matriks kitosan yang berikatan

silang dengan glutaraldehid, selain itu juga terdapat metode amobilisasi enzim yaitu metode *cross-linking*. Pada metode *cross-linking*, glutaraldehid hanya berikatan pada salah satu sisi ujung gugus amina dari kitosan dan berikatan dengan sisi ujung gugus amina lain dari enzim yang ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Amobilisasi enzim dengan Metode *cross-linking*.

4.7 Pengurangan Kandungan Protein pada Air Limbah Pabrik Tahu dengan Enzim Bromelin Amobil

Air limbah tahu diambil 20 mL sebanyak lima kali, masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer A, B, C, D, dan E, ditambahkan enzim bromelin, dan Erlenmeyer A sebagai larutan kontrol (tanpa ditambahkan enzim bromelin amobil). Larutan cuplikan pada Erlenmeyer B, C, D, dan E ditambahkan enzim bromelin amobil dengan variasi berat enzim bromelin

amobil sebanyak 2 mg, 3 mg, 4 mg, dan 5 mg. Kemudian dimasukkan ke dalam *shaker* dengan kecepatan 110 rpm pada variasi waktu inkubasi 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, dan 10 jam, dan ditentukan kandungan sisa protein dalam air limbah tahu. Pengurangan kandungan protein pada air limbah tahu dengan enzim bromelin amobil akan diperoleh massa enzim bromelin amobil dan waktu inkubasi optimum.

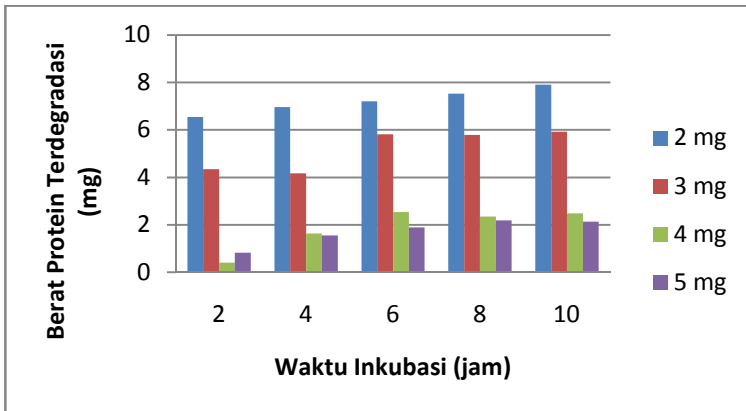
Tabel 4.2 dibawah menunjukkan hasil perhitungan dari pengurangan kandungan protein pada air limbah tahu, dimana berat enzim teramobil diperoleh dari hasil pengurangan berat enzim amobil awal yang digunakan untuk amobilisasi dengan berat enzim yang tidak teramobil.

Tabel 4.2 Jumlah berat protein yang terdegradasi pada pengurangan kandungan protein air limbah tahu.

Waktu Inkubasi (jam)	Berat Protein Terdegradasi (mg)			
	E.Amobil 2 mg	E.Amobil 3 mg	E.Amobil 4 mg	E.Amobil 5 mg
Kontrol	8,84159	8,84159	8,84159	8,84159
2	6,54933	4,33893	0,40933	0,81867
4	6,95866	4,17520	1,63733	1,55547
6	7,20426	5,81253	2,53787	1,88293
8	7,53173	5,78524	2,34684	2,18311
10	7,91377	5,92168	2,48329	2,12853

Bila dibuat hubungan berat protein terdegradasi dengan waktu inkubasi, ditunjukkan pada Gambar 4.10 dibawah. Gambar 4.10 menunjukkan bahwa semakin banyak penambahan jumlah enzim bromelin amobil, maka semakin sedikit berat protein yang terdegradasi. Tetapi dengan penambahan waktu inkubasi mampu meningkatkan jumlah protein yang terdegradasi. Dari hasil penelitian ini berat enzim bromelin amobil yang mampu mengurangi kandungan protein pada air limbah tahu secara

maksimal adalah 2 mg enzim bromelin amobil dengan waktu inkubasi 10 jam diperoleh berat protein yang terdegradasi sebesar 7,91377 mg.



Gambar 4.10 Kurva protein terdegradasi pada pengurangan kandungan protein air limbah tahu.

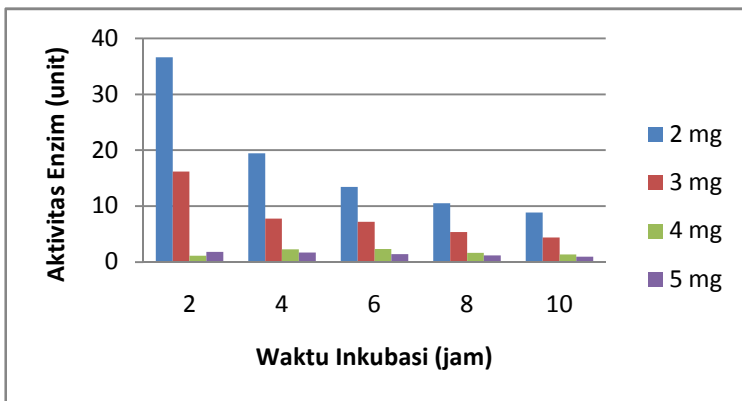
Bila dihitung dalam satuan unit aktivitas, maka diperoleh perhitungan pada Tabel 4.3 menunjukkan hasil perhitungan aktivitas enzim bromelin yang diperoleh dari berat protein limbah yang terdegradasi (μg) per waktu inkubasi (menit) dan per berat enzim bromelin awal (mg) yang digunakan. Dalam 1 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya mikro gram produk yang terdegradasi dalam per menit, per milligram enzim.

Tabel 4.3 Aktivitas enzim bromelin amobil pada pengurangan air limbah tahu.

Waktu Inkubasi (jam)	Aktivitas Enzim (unit)			
	E.Amobil 2 mg (1,49041 mg)	E.Amobil 3 mg (2,23562 mg)	E.Amobil 4 mg (2,98082 mg)	E.Amobil 5 mg (3,72603 mg)
2	36,61922	16,17349	1,14436	1,83096
4	19,45396	7,78159	2,28870	1,73941

6	13,42705	7,22212	2,36499	1,40374
8	10,52803	5,39116	1,64024	1,22064
10	8,84964	4,41465	1,38848	0,95210

Bila dibuat hubungan aktivitas enzim dengan waktu inkubasi, ditunjukkan pada Gambar 4.11 dibawah. Gambar 4.11 menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah enzim bromelin amobil yang digunakan untuk mendegradasi protein dalam pengurangan kandungan protein air limbah tahu dapat menurunkan aktivitas enzim tersebut dalam per satuan unit. Begitu juga dengan semakin lama waktu inkubasi pengurangan kandungan protein dapat menurunkan aktivitas enzim. Dari hasil penelitian ini pada umumnya diperoleh aktivitas enzim optimum terjadi ada kondisi 2 mg enzim bromelin amobil dalam kurun waktu inkubasi 2 jam, yaitu aktivitas enzimnya sebesar 36,61922 unit.



Gambar 4.11 Kurva aktivitas enzim bromelin pada pengurangan air limbah tahu.

Pada kondisi awal pori-pori enzim amobil masih kosong, sehingga dengan mudah substrat menembus enzim amobil dan aktivitas enzim tinggi. Dengan bertambahnya waktu inkubasi

enzim amobil semakin penuh dengan substrat, maka substrat lainnya akan sulit menembus enzim amobil dan produk masih bercampur dalam satu media. Produk dapat mempengaruhi sekresi produk, yang dapat menurunkan aktivitas enzim. Selain itu, faktor lain yang menyebabkan nilai aktivitas enzim turun karena adanya faktor pembagi waktu, dimana semakin lama waktu yang digunakan untuk inkubasi, maka semakin besar nilai pembaginya dan nilai aktivitas enzim semakin kecil.

Dari hasil penelitian yang diperoleh bahwa enzim bromelin amobil dengan matriks kitosan mampu mendegradasi protein pada air limbah pabrik tahu sebesar 89,506% pada kondisi jumlah enzim amobil 2 mg dan 10jam waktu inkubasi. Sedangkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Prawesti, Y.D.H (2009) diperoleh enzim bromelin amobil dengan matriks alginat 2% mampu mendegradasi protein dalam air limbah pabrik tahu sebesar 59,641% pada pH 6,5, konsentrasi substrat 80%, dan 9 jam waktu inkubasi. Jadi, enzim bromelin amobil lebih maksimal dalam mendegradasi protein dengan menggunakan matriks kitosan.

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa enzim bromelin amobil dengan menggunakan matriks pendukung kitosan dapat mengurangi kandungan protein dalam air limbah pabrik tahu. Dari hasil pengaruh jumlah enzim amobil yang digunakan dan waktu inkubasi optimum diperoleh 2 mg enzim bromelin amobil mendegradasi protein sebesar 89,50617% (7,91377 mg) selama 10 jam waktu inkubasi. Ketika penambahan jumlah enzim amobil berlebih dapat menurunkan jumlah protein yang terdegradasi. Enzim bromelin amobil mampu mendegradasi protein secara maksimal seiring bertambah lamanya waktu inkubasi, namun dapat menurunkan aktivitas enzim. Dari variabel jumlah enzim amobil dan waktu inkubasi diperoleh aktivitas enzim optimum pada penggunaan 2 mg enzim amobil dan 2 jam waktu inkubasi.

5.2 Saran

Pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh optimasi konsentrasi kitosan sebagai zat pengamobil, optimasi konsentrasi enzim, pengaruh suhu dan pH yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim dalam pengurangan kandungan protein air limbah tahu.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., & Nawfa, R. (2010). Amobilisasi Bromelin dengan Menggunakan Kitosan sebagai Matriks Pendukung. In *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA ITS.
- Bhuvana. (2006). Studies on Frictional Behavior of Chitosan-Coated Fabrics. *Aux. Res. J.* , Vol 6 (4), 123-130.
- Dalimartha, S., & Adrian, F. (2011). Khasiat Buah dan Sayur. In *Khasiat Buah dan Sayur* (pp. 62-66). Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haerunnisa. (2008). Analisis Kualitas dan Formulasi Alginat Hasil Ekstraksi Sargassum filipendula untuk Pembuatan Minuman Suplemen Serat dalam Bentuk Effervescent. In *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Hudha, M. I., Jimmy, & Muyassaroh. (2014, September 20). Studi Penurunan COD dan TSS Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Proses Elektrokimia. *Prosiding Seminar Nasional Kimia* , B185-B191.
- Kuchel, P. W., & Ralston, G. B. (2006). Biokimia. In K. E. Cullen (Ed.), *Schaum's Outlines* (second ed., pp. 49-59). Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains* , Vol. 11 (No. 2), 198-201.
- Kusuma, I. A., Laksmiwati, A. A., Arsa, M., & Ratnayani, K. (2015). Perbandingan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Buah Nanas yang Diisolasi dengan Beberapa Jenis Garam Pengendap. *Jurnal Kimia* 9 (2), 139-146.
- Lehninger, A. L. (1982). *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Erlangga.

- Marks, D. B., Marks, A. D., & Smith, C. M. (2000). Sebuah Pendekatan Klinis. In *Biokimia Kedokteran Dasar*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Maryam, S. (2009). Ekstrak Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas sativus* Schult.) dan Pemanfaatannya pada Isolasi DNA. In *Skripsi*. Semarang: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Masri, M. (2014). Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) pada Variasi Suhu dan pH. *BIOGENESIS 121* , Vol: 2 (No: 2), 119-125.
- Muhajir, M. S. (2013). Penurunan Limbah Cair BOD dan COD pada Industri Tahu Menggunakan Tanaman Cattail (*Typa augustifolia*) dengan Sistem Constructed Wetland. In *Skripsi*. Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Oktadina, F. D., Argo, B. D., & Hermanto, M. B. (2013). Pemanfaatan Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea* Sp) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* , Vol: 1 (No: 3), 265-273.
- Oktavia, R., Suharti, & Susanti, E. (n.d.). Karakterisasi Bromelin yang Diamobilisasi dalam Agar Komersial. *Jurnal Kimia* .
- Prawesti, Y. D., & Nawfa, R. (2009). Penggunaan Enzim Bromelin Amobil dari Buah Nanas (*Ananas comosus*) untuk Pengurangan Kandungan Protein Air Limbah Pabrik Tahu. In *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA ITS.
- Rismana, E. (2003, Januari 9). Serat Kitosan Mengikat Lemak. *Harian Kompas* .
- Rodwell, V. W. (1987). Harper's Review of Biochemistry. In *EGC Kedokteran*. Jakarta.

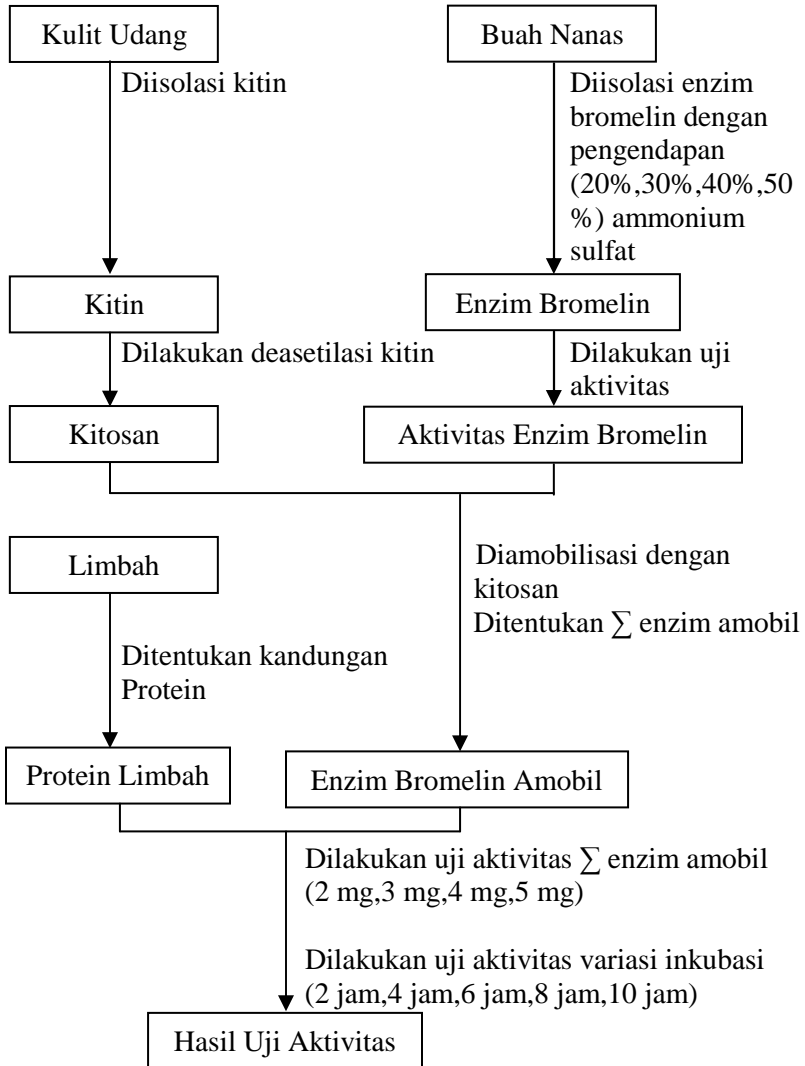
- Romli. (2009). Beban Pencemaran Limbah Cair Industri Tahu. In *Jurnal* (Vol. Vol. 10). Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Samsudin, A. M. Pengembangan Teknik Immobilisasi Enzim Glucose Oxidase pada Membran Komposit Berbasis Kitosan dan Uji Aplikasinya untuk Pembuatan Biosensor Glukosa. In *Skripsi*. Semarang: Program Magister Teknik Kimia Universitas Diponegoro.
- Santoso, H. B. (1998). Sari Buah Nanas. In *Teknologi Tepat Guna* (pp. 11-13). Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Saputra, W. (2014). Budi Daya Jamr Merang. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Sumardjo, D. (2008). Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta. In *Pengantar Kimia* (pp. 398-420). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sunarjono, H. (2008). Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah. In *Seri Agribisnis* (pp. 142-148). Jakarta: Penebar Swadaya.
- Utami, D. P., Pudjomartatmo, & Nuhriawangsa, A. M. (2011). Manfaat Bromelin dari Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.). *Sains Peternakan*, Vol. 9 (No. 2), 82-87.
- Wahistina, R., Ellyke, & Pujiati, R. S. (2013). Analisis Perbedaan Penurunan Kadar BOD dan COD pada Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Zeolit (Studi di Pabrik Tahu di Desa Kraton Kecamatan Kencong Kabupaten Jember). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Wibowo, S. (2006). Produksi Kitin Kitosan secara Komersial. *Prosiding Seminar Nasional Kitin-Kitosan 2006*. DTHP.IPB.
- Winarno, F. G. (1989). *Enzim Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Wuryanti. (2006). Amobilisasi Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas dengan Bahan Pendukung (Support) Karagenan

dari Rumput Laut (*Euchema cottonii*). *JSKA* , Vol: IX
(No. 3).

Yuwono, T. (2008). *Bioogi Molekular*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Metodologi



Lampiran 2 Perhitungan

1. Membuat larutan NaOH 0,4 N

$$BE_{\text{NaOH}}=1 \text{ dan } N_{\text{NaOH}}=M_{\text{NaOH}}$$

Volume yang diinginkan 50 mL dan 50 mL=0,005 L

$$n_{\text{NaOH}}=M_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}}$$

$$\text{berat}_{\text{NaOH}}=n_{\text{NaOH}} \cdot M_{\text{NaOH}}$$

$$n_{\text{NaOH}}=0,4 \text{ M} \cdot 0,050 \text{ L}$$

$$\text{berat}_{\text{NaOH}}=0,02 \text{ mol} \cdot 40\text{g/mol}$$

$$n_{\text{NaOH}}=0,02 \text{ mol}$$

$$\text{berat}_{\text{NaOH}}=0,8 \text{ gram}$$

Jadi, untuk membuat larutan NaOH ,4 N tersebut diambil NaOH kristal sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dengan aquades sampai 50 mL.

2. Persentase hasil kitin menjadi kitosan

$$\text{Deproteinasi} \quad \% = \frac{g \text{ setelah}}{g \text{ sebelum}} \times 100\%$$

$$\% = \frac{4,0046 \text{ gram}}{10,000 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% = 40,046\%$$

Jadi, setelah dilakukan deproteinasi kitin, berat sampel berkurang sebesar $100\% - 40,046\% = 59,954\%$.

$$\text{Demineralisasi} \quad \% = \frac{g \text{ setelah}}{g \text{ sebelum}} \times 100\%$$

$$\% = \frac{1,6411 \text{ gram}}{4,0046 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% = 29,069\%$$

Jadi, setelah dilakukan demineralisasi kitin, berat sampel berkurang lagi sebesar $100\% - 29,069\% = 70,931\%$.

$$\text{Deasetilasi} \quad \% = \frac{g \text{ setelah}}{g \text{ sebelum}} \times 100\%$$

$$\% = \frac{0,8356 \text{ gram}}{1,6411 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% = 50,92\%$$

Jadi, setelah dilakukan deasetilasi kitin menjadi kitosan, berat sampel berkurang sebesar $100\% - 50,92\% = 49,08\%$. Sehingga hanya didapatkan kitosan sebesar 8,36% (0,8356 gram dari 10 gram ekstrak kulit udang).

3. Pembuatan Buffer Fosfat

A=larutan NaH_2PO_4 0,2 M

B=larutan Na_2HPO_4 0,2 M

Larutan A + larutan B, diencerkan sampai 100 mL dengan aquades.

A (mL)	B (mL)	pH
87,7	12,3	6,0

Larutan A (NaH_2PO_4 0,2M) 100 mL

$$Mr_{\text{NaH}_2\text{PO}_4} = \left(\frac{1_{\text{Na}} \times 22,99 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{2_{\text{H}} \times 1,008 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{1_{\text{P}} \times 30,974 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{4_{\text{O}} \times 15,99 \text{ g}}{\text{mol}} \right)$$

$$Mr_{\text{NaH}_2\text{PO}_4} = 119,940 \text{ g/mol}$$

$$\text{mol} = M \times V$$

$$\text{mol} = 0,2 \text{ M} \times 100 \text{ mL}$$

$$\text{mol} = 0,2 \text{ M} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{mol} = 0,02 \text{ mol}$$

$$m = \text{mol} \times Mr_{\text{NaH}_2\text{PO}_4}$$

$$m = 0,02 \text{ mol} \times 119,940 \text{ g/mol}$$

$$m = 2,3988 \text{ gram}$$

Larutan B (Na_2HPO_4 0,2 M) 100 mL

$$Mr_{\text{Na}_2\text{HPO}_4} = \left(\frac{2_{\text{Na}} \times 22,99 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{1_{\text{H}} \times 1,008 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{1_{\text{P}} \times 30,974 \text{ g}}{\text{mol}} \right) + \left(\frac{4_{\text{O}} \times 15,99 \text{ g}}{\text{mol}} \right)$$

$$Mr_{\text{Na}_2\text{HPO}_4} = 141,956 \text{ g/mol}$$

$$\text{mol} = M \times V$$

$$\text{mol} = 0,2 \text{ M} \times 100 \text{ mL}$$

$$\text{mol} = 0,2 \text{ M} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{mol} = 0,02 \text{ mol}$$

$$m = \text{mol} \times Mr_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$$

$$m = 0,02 \text{ mol} \times 141,956 \text{ g/mol}$$

$$m = 2,8391 \text{ gram}$$

Lampiran 3 Data Panjang Gelombang Maksimum

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi			
	1	2	3	Rata-rata
450	0,349	0,352	0,351	0,351
455	0,368	0,371	0,370	0,370
460	0,390	0,392	0,391	0,391
465	0,414	0,416	0,414	0,415
470	0,439	0,441	0,438	0,439
475	0,466	0,467	0,466	0,466
480	0,492	0,493	0,490	0,492
485	0,517	0,519	0,516	0,517
490	0,542	0,542	0,539	0,541
495	0,563	0,564	0,560	0,562
500	0,581	0,582	0,578	0,580
505	0,595	0,597	0,592	0,595
510	0,607	0,608	0,603	0,606
515	0,613	0,615	0,610	0,613
520	0,617	0,617	0,613	0,616
525	0,615	0,616	0,612	0,614
530	0,611	0,612	0,607	0,610
535	0,603	0,604	0,599	0,602
540	0,592	0,592	0,587	0,590
545	0,578	0,579	0,574	0,577
550	0,561	0,562	0,557	0,560
555	0,544	0,544	0,538	0,542
560	0,524	0,525	0,520	0,523
565	0,503	0,502	0,498	0,501
570	0,481	0,481	0,477	0,480
575	0,459	0,459	0,455	0,458
580	0,436	0,435	0,431	0,434
585	0,414	0,415	0,410	0,413
590	0,390	0,391	0,387	0,389
595	0,368	0,370	0,364	0,367
600	0,346	0,346	0,342	0,345

Lampiran 4 Data Absorbansi Kurva Standar Kasein

Variasi Konsentrasi Kasein	Absorbansi $\lambda=520 \text{ nm}$			
	1	2	3	Rata-rata
500 ppm	0,245	0,245	0,246	0,245
1000 ppm	0,385	0,386	0,385	0,385
1500 ppm	0,532	0,535	0,535	0,534
2000 ppm	0,740	0,741	0,741	0,741
2500 ppm	0,863	0,863	0,863	0,863
3000 ppm	0,995	0,995	0,997	0,996

Persamaan garis lurus melewati titik nol, yaitu:

$$y = a \cdot x \quad (1)$$

Penyimpangan setiap titik pada garis lurus dinyatakan sebagai berikut:

$$y_i - a \cdot x_i = d \quad (2)$$

Apabila suatu titik tersebut $y_i - a \cdot x_i = 0$, maka secara statistik penyimpangan semua titik tersebut dinyatakan $y = a \cdot x$ yang dapat dinyatakan sebagai jumlah kuadrat dari penyimpangan setiap titik yaitu:

$$S = \sum (y_i - a \cdot x)^2 \quad (3)$$

$$S = \sum (y_i^2 - 2 a \cdot x_i \cdot y_i + a^2 \cdot x_i^2) \quad (4)$$

Secara sistematis turunan pertama dari nilai S pada persamaan 4 dapat dinyatakan sebagai fungsi a dengan nilai samadengan nol, persamaannya yaitu:

$$dS/da = \sum (-2 x_i \cdot y_i + 2 a \cdot x_i^2) = 0 \quad (5)$$

$$a \sum x_i^2 = \sum x_i \cdot y_i \text{ atau } a = \frac{\sum x_i y_i}{\sum x_i^2} \quad (6)$$

Dari persamaan 6 dapat dihitung nilai a, sehingga persamaan $y = a \cdot x$ diperoleh melewati titik nol.

Konsentrasi Larutan Kasein (ppm) x_i	Absorbansi y_i	$x_i \cdot y_i$	$(x_i)^2$
500	0,245	122,5	250000
1000	0,385	385	1000000
1500	0,534	801	2250000
2000	0,741	1482	4000000
2500	0,863	2157.5	6250000
3000	0,996	2988	9000000
Jumlah		7936	22760000

$$a = \frac{\sum x_i y_i}{\sum x_i^2}$$

$$a = 7936 / 22760000$$

$$a = 0.000349$$

Persamaan garis:

$$y = a \cdot x$$

$$y = 0.000349x$$

Lampiran 5 Uji Aktivitas Enzim Bromelin

Fraksi Enzim	Absorbansi Larutan Kasein+Enzim	Konsentrasi Protein Terukur (ppm)	Konsentrasi Protein Sebenarnya (ppm)	Berat Protein (mg)			Aktivitas (unit)
				Kasein + Enzim	Kasein Sisa	Terdegradasi	
20%	0,683	1957,02006	2795,74294	27,95743	25,45743	1,54257	10,28380
30%	0,680	1948,42407	2783,46296	27,83463	25,33463	1,66537	11,10247
40%	0,681	1951,28940	2787,55628	27,87556	25,37556	1,62444	10,82958
50%	0,684	1959,88539	2799,83627	27,99836	25,49836	1,50164	10,01092

Catatan:

Konsentrasi kasein yang digunakan = 3000 ppm

Berat kasein awal = 27 mg

Waktu inkubasi = 1 jam = 60 menit

Berat enzim yang digunakan = 2,5 mg

Volum larutan kasein = 7 mL

$$\text{Massa}_{\text{kasein terdegradasi}} = \text{Massa}_{\text{kasein awal}} - \text{Massa}_{\text{kasein sisa}}$$

Perhitungan:

Fraksi Enzim 20%

1. Konsentrasi protein terukur

Persamaan garis $y = 0,000349x$

x = konsentrasi protein terukur

y = absorbansi

$x = y / 0,000349$

$x = 1957,02006$ ppm

Jadi, konsentrasi protein yang terukur adalah 1957,02006 ppm.

2. Konsentrasi sebenarnya

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$7 \text{ mL} \cdot M_1 = 10 \text{ mL} \cdot 1957,02006 \text{ ppm}$$

$$M_1 = 2795,74294 \text{ ppm}$$

Jadi, konsentrasi protein yang sebenarnya adalah 2795,74294 ppm.

3. Massa kasein+enzim

$$[\text{kasein+enzim}] / 10 \text{ mL} = 2795,74294 \text{ ppm}$$

$$[\text{kasein+enzim}] / 10 \text{ mL} = 2795,74294 \text{ mg/L}$$

$$\text{Massa}_{\text{kasein+enzim}} = (2795,74294 \text{ mg/1000mL}) \cdot 10 \text{ mL}$$

$$\text{Massa}_{\text{kasein+enzim}} = 27,95743 \text{ mg}$$

Jadi, berat protein kasein+enzim adalah 27,95743 mg.

4. Massa kasein sisa

$$\text{massa}_{\text{kasein sisa}} = \text{massa}_{\text{kasein+enzim}} - \text{massa}_{\text{enzim}}$$

$$\text{massa}_{\text{kasein sisa}} = 27,95743 \text{ mg} - 2,5 \text{ mg}$$

$$\text{massa}_{\text{kasein sisa}} = 25,45743 \text{ mg}$$

Jadi, berat kasein sisa adalah 25,45743 mg.

5. Massa kasein terdegradasi

$$\text{massa}_{\text{kasein terdegradasi}} = \text{massa}_{\text{kasein awal}} - \text{massa}_{\text{kasein sisa}}$$

$$\text{massa}_{\text{kasein terdegradasi}} = 27 \text{ mg} - 25,45743 \text{ mg}$$

$$\text{massa}_{\text{kasein terdegradasi}} = 1,54257 \text{ mg}$$

Jadi, berat kasein yang terdegradasi adalah 1,54257 mg.

6. Aktivitas enzim

Aktivitas enzim = $\text{massa}_{\text{kasein terdegradasi}} / \text{waktu}_{\text{inkubasi}} / \text{massa}_{\text{enzim awal}}$

$$\text{Aktivitas enzim} = 1,54257 \text{ mg} / 60 \text{ menit} / 2,5 \text{ mg}$$

$$\text{Aktivitas enzim} = 1542,57 \mu\text{g} / 60 \text{ menit} / 2,5 \text{ mg}$$

$$\text{Aktivitas enzim} = 10,28380 \text{ unit}$$

Jadi, aktivitas enzim bromelin adalah 10,28380 unit.

Lampiran 6 Pengurangan Kandungan Protein Air Limbah Tahu dengan Variasi Massa Enzim
Bromelin Amobil dan Waktu Inkubasi

Waktu Inkubasi (jam)	m _{enzim} (mg)	Sisa Protein				Protein Terdegradasi		Aktivitas Enzim (unit)
		(A)	[terukur] (ppm)	[sebenarnya] (ppm)	m _{sebenarnya} (mg)	(mg)	(%)	
Kontrol		0,108	309,45559	442,07941	8,84159	-	-	-
2	2	0,028	80,22923	114,61318	2,29226	6,54933	74,07408	36,61922
	3	0,055	157,59312	225,13303	4,50266	4,33893	49,07408	16,17349
	4	0,103	295,12894	421,61277	8,43226	0,40933	4,629649	1,14436
	5	0,098	280,80229	401,14613	8,02292	0,81867	9,259278	1,83096
4	2	0,023	65,90258	94,14654	1,88293	6,95866	78,70371	19,45396
	3	0,057	163,32378	233,31969	4,66639	4,17520	47,22223	7,78159
	4	0,088	252,14900	360,21285	7,20426	1,63733	18,51854	2,28870
	5	0,089	255,01433	364,30618	7,28612	1,55547	17,59261	1,73941
6	2	0,020	57,30659	81,86656	1,63733	7,20426	81,48149	13,42705
	3	0,037	106,01719	151,45313	3,02906	5,81253	65,74075	7,22212
	4	0,077	220,63037	315,18625	6,30372	2,53787	28,70372	2,36499
	5	0,085	243,55301	347,93287	6,95866	1,88293	21,29631	1,40374
8	2	0,016	45,84527	65,49325	1,30986	7,53173	85,18519	10,52803

	3	0,037	106,97230	152,81757	3,05635	5,78524	65,43211	5,39116
	4	0,079	227,31614	324,73734	6,49475	2,34684	26,54322	1,64024
	5	0,081	233,04680	332,92400	6,65848	2,18311	24,69137	1,22064
10	2	0,011	32,47373	46,39105	0,92782	7,91377	89,50617	8,84964
	3	0,036	102,19675	145,99536	2,91991	5,92168	66,97532	4,41465
	4	0,078	222,54059	317,91513	6,35830	2,48329	28,08643	1,38848
	5	0,082	234,95702	335,65289	6,71306	2,12853	24,07409	0,95210

Catatan: $m_{\text{sebenarnya}}$ = massa protein dari konsentrasi protein sebenarnya

volume larutan (limbah+enzim) = 20 mL

$m_{\text{larutan kontrol}} = 8,84519 \text{ mg}$

$m_{\text{enzim yang teramobil}} = 49,58600 \text{ mg}$

$m_{\text{enzim amobil (enzim+kitosan)}} = 66,54 \text{ mg}$

$$\% = \frac{\text{berat protein terdegradasi}}{\text{berat larutan kontrol (limbah)}} \times 100\%$$

$$m_{\text{protein enzim}} = \frac{m_{\text{enzim amobil yang digunakan}}}{m_{\text{enzim amobil (enzim+kitosan)}}} \times m_{\text{enzim yang teramobil}}$$

Perhitungan massa protein enzim yang digunakan untuk pengurangan kandungan protein air limbah pabrik tahu pada setiap variasi jumlah enzim bromelin amobil, yaitu:

$$m_{\text{enzim amobil}} = 2 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = (2 \text{ mg}/66,54 \text{ mg}) \times 49,586 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = 1,49041 \text{ mg}$$

$$m_{\text{enzim amobil}} = 3 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = (3 \text{ mg}/66,54 \text{ mg}) \times 49,586 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = 2,23562 \text{ mg}$$

$$m_{\text{enzim amobil}} = 4 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = (4 \text{ mg}/66,54 \text{ mg}) \times 49,586 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = 2,98082 \text{ mg}$$

$$m_{\text{enzim amobil}} = 5 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = (5 \text{ mg}/66,54 \text{ mg}) \times 49,586 \text{ mg}$$

$$m_{\text{protein enzim}} = 3,72603 \text{ mg}$$

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

RIWAYAT PENULIS



Penulis yang bernama Mawaddatul Warochmah dilahirkan di Sidoarjo pada tanggal 1 November 1992, sebagai anak kedua dari dua bersaudara. Penulis adalah alumnus TK Kartika Larangan Candi Sidoarjo, SDN Larangan Candi, SMPN 1 Candi, dan SMA Muhammadiyah 2 Sidoarjo. Setelah lulus menempuh pendidikan di Sekolah Menengah Atas, penulis melanjutkan pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya melalui jalur prestasi (undangan) pada tahun 2011. Selama menempuh pendidikan di ITS, penulis pernah mengikuti kegiatan olahraga yaitu tennis lapangan, dan sering mengikuti seminar pendidikan maupun motivasi yang diadakan oleh ITS. Selain itu, penulis sempat mengambil mata kuliah pilihan Kerja Praktek (KP) yang dilakukan di SIER Surabaya bagian laboratorium pengolahan limbah. Penulis menamatkan studi di Jurusan Kimia FMIPA ITS dengan mengambil Tugas Akhir bidang Biokimia.